ACADÉMIE DE PARIS
FACULTÉ DE MÉDECINE COCHIN PORT-ROYAL

Année 1972 N° 166

THESE

Pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

MICHEL ALCALAY
Né le 11 Avril 1941 à CLERMONT-FERRAND (Puy-de-Dôme)
INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 1972

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA PATHOGENIE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOIDE PAR LE TEST D'INHIBITION DE LA MIGRATION DES LEUCOCYTES.

Président : Monsieur F. DELBARRE, Professeur.

ACADÉMIE DE PARIS
FACULTÉ DE MÉDECINE COCHIN PORT-ROYAL

Année 1972 **N°**

THESE

Pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

MICHEL ALCALAY
Né le 11 Avril 1941 à CLERMONT-FERRAND (Puy-de-Dôme)
INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 1972

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA PATHOGENIE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOIDE PAR LE TEST D'INHIBITION DE LA MIGRATION DES LEUCOCYTES.

Président : Monsieur F. DELBARRE, Professeur.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

à Dominique

avec toute ma tendresse

à Caroline et Aymeric

à mes parents

à qui je ne pourrai jamais dire tout
ce que je leur dois

à tous les miens, et plus particulièrement, à chacun d'eux

avec toute mon affection

à mes beaux-parents

à mes amis

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur F. DELBARRE

- Professeur de Clinique de Rhumatologie médicale et sociale
- Doyen de la Faculté de Médecine Cochin-Port Royal
- Directeur du Centre de Recherches sur les maladies ostéo-articulaires de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
- Chevalier de la Légion d'Honneur

qui m'a accueilli dans son Service

et qui a bien voulu me faire l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

En témoignage de ma respectueuse reconnaissance

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547107_0014

A Madame le Docteur A. KAHAN

Qui m'a fait bénéficier, avec la gentillesse qui la caractérise, de la somme de connaissances immunologiques qu'elle possède, m'a aidé de sa rigueur et de son expérience, a accepté de diriger la réalisation technique des travaux, et m'a guidé dans la rédaction de cette thèse.

En témoignage de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Agrégé B. AMOR

dont le savoir et le sens clinique font l'admiration de tous.

Il a encouragé ce travail et l'a orienté de ses précieux conseils.

Pour sa bienveillante compréhension, qu'il me permette de lui exprimer ici toute ma gratitude et mon respectueux attachement.

A Monsieur le Docteur R. MOULIAS

Qui m'a inspiré le sujet de cette thèse et m'a familiarisé avec certains aspects de l'Immunologie.

A Monsieur le Docteur A. PELTIER

Qui m'a aimablement conseillé dans la rédaction du début de la thèse

A toutes celles et à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de cette thèse, et particulièrement :

- à Messieurs les Docteurs M. DARCY et M. THOMAS, qui m'ont aimablement fourni les synoviales nécessaires
- à Mademoiselle M. BOHN et Madame A. CHARLES
- à Mademoiselle E. GNIAZDOWSKA
- à Monsieur le Docteur H. BROUILHET
- à mes Externes dans le Service du Professeur Delbarre qui m'ont servi de témoins
- à Mademoiselle GASPAIS, Madame BOSC et Mademoiselle KAHN

A Monsieur le Porfesseur Agrégé C. MENKES

A Monsieur le Docteur L. SAPORTA

A Monsieur le Docteur F. SIMON

dont l'enseignement moderne et enthousiaste m'a fait saisir les beautés de ma spécialité.

En témoignage du souvenir que me laissent les mois de travail si vite passés à leurs côtés.

A MES MAITRES A LA FACULTE DE MEDECINE DE CLERMONT-FERRAND

Qui m'ont initié à la Connaissance des Sciences Fondamentales de la Médecine

En témoignage de respectueuse gratitude

A MES MAITRES D'EXTERNAT

Monsieur le Professeur J. BARCAT

Monsieur le Professeur C. HOUDARD

Monsieur le Professeur G. BROUET

Monsieur le Docteur H. BLOCH-MICHEL

Monsieur le Professeur F. LHERMITTE

Monsieur le Professeur R. TURPIN

Monsieur le Docteur P. BOUTTIER

Monsieur le Docteur J.A. LIEVRE

Qui m'ont initié à l'apprentissage de la Clinique

En témoignage de profond respect

A MES MAITRES D'INTERNAT

Monsieur le Docteur P. LAMBERT

Monsieur le Professeur Agrégé A. SARRAZIN

Monsieur le Professeur R. WOLFROMM dont la générosité marque à jamais le souvenir

Monsieur le Docteur J.A. LIEVRE

Monsieur le Professeur F. LHERMITTE

Monsieur le Professeur J. BOUSSER

Monsieur le Professeur F. DELBARRE

Monsieur le Professeur S. DE SEZE

Qui m'ont fait l'honneur de me recevoir dans leur Service

En témoignage de ma profonde gratitude

A Monsieur le Professeur J. LOEPER

MEDECIN DE L'HOPITAL DE LA SALPETRIERE

PROFESSEUR DE MEDECINE EXPERIMENTALE AU C.H.U. SAINT ANTOINE

Qui a bien voulu m'honorer de sa confiance pour partager sa tâche d'enseignant.

En témoignage de déférente reconnaissance.

A Monsieur le Docteur J. CAYLA, Médecin des Hôpitaux de Paris

A Messieurs les PROFESSEURS AGREGES

D. HERMAN
J.P. CAMUS
R. MARTEAU
R. ZITTOUN
A. BERNADOU
F. LIOT
M.F. KAHN
A. DRYLL

A Madame le Docteur V. MAY

A Messieurs les DOCTEURS

C. BENICHOU
S. BRAUN
L. CHOURAKI
J. GAZENGEL
G. ISSERLIS
P. NATAF

Qui m'ont transmis, selon la tradition, leurs expériences inestimables.

En témoignage de reconnaissance et de respect.

A Monsieur le Docteur NGHIEM MINH DUNG

Dont l'enseignement m'a ouvert les portes de l'INTERNAT

A Messieurs les Docteurs

J. CROUZET

P. GUILLIEN

M. JOUBLIN

Qui ont entouré de leur sympathie mes débuts dans la Rhumatologie

A Monsieur le Docteur F. SIMON

Qu'il m'est agréable de remercier encore pour l'aide et le soutien qu'il ne m'a jamais ménagés.

P L A N

I - Introduction 3

2. Justification théorique de notre étude 6

2.I. Pathogénie de la polyarthrite rhumatoide 7

2.I.I. Hypothèses abandonnées 7

2.I.2. Hypothèses en cours d'étude 8

2.I.2.I. Hypothèse auto-immunitaire 8

2.I.2.2. Hypothèse virale 20

2.I.2.3. Essai de synthèse 26

2.2. Etude des principaux tests d'hypersensibilité retardée 28

2.2.I. Réactions cutanées 28

2.2.2. Test de transformation lymphoblastique 38

2.2.3. Test de migration leucocytaire 49

2.2.3.I. Historique 49

2.2.3.2. Interprétation 56

2.2.3.2.I. Interprétation des tests utilisant l'inhibition de la migration des macrophages 56

2.2.3.2.2. Interprétation du test de migration leucocytaire 68

2.2.3.3. Applications 73

2.2.3.4. Critiques 76

2.2.4. Les autres lymphokines 82

3. Travaux personnels 87

3.I. Matériel et Méthodes 88

3.I.I. Choix des sujets 88

3.I.2. Techniques 91

3.I.2.I. T.M.L. 91

3.I.2.2. I.D.R. 93

3.I.2.3. T.T.L. 93

3.2. Résultats 95

3.2.I. T.M.L. 95

3.2.2. I.D.R. 104

3.2.3. T.T.L. 104

3.3. Discussion 120

4 - Conclusions 127

5 - Bibliographie 131

5.I. De la pathogénie de la P.R. 132

5.2. Des tests d'hypersensibilité retardée

5.2.I. Tests cutanés 138

5.2.2. T.T.L. 140

5.2.3. T.M.L. 143

I - I N T R O D U C T I O N

La pathogénie de la polyarthrite rhumatoide suscite un nombre considérable de travaux. Comment s'en étonner quand on considère d'une part la fréquence de cette maladie (qui interesse selon les statistiques 3 à 40 pour mille de la population) et sa gravité, d'autre part sa parenté avec un groupe d'affections plus rares mais plus graves encore : les connectivites majeures.

La progression géométrique du nombre d'études consacrées chaque année à cette affection indique bien l'ignorance où l'on est encore de sa cause véritable. Cependant, deux voies d'exploration prometteuses se sont ouvertes depuis plusieurs années : la voie immunologique et la voie virologique.

C'est la première que nous avons suivie, projetant de mettre éventuellement en évidence, chez les polyarthritiques, une hypersensibilité de type retardé au tissu synovial qui leur fût spécifique ; nous avons fait appel aux trois tests qui à l'heure actuelle sont reconnus comme les meilleurs témoins de l'hypersensibilité retardée : la réaction intra-dermique, le test de transformation lymphoblastique et le test de migration leucocytaire, en utilisant comme réactifs (éventuellement antigéniques) des extraits aqueux de synoviale saine et de synoviale rhumatoide et en comparant les résultats à ceux obtenus avec des extraits tissulaires autres que synoviaux.

Après un rappel des théories succéssives sur la pathogénie de la polyarthrite rhumatoide, et en détaillant les faits qui sont en faveur d'un mécanisme immunologique,mais aussi ceux en faveur d'une

infection virale(l'un n'excluant pas l'autre), nous ferons une analyse critique rapide des réactions intra-dermiques d'hypersensibilité retardée et du test de transformation lymphoblastique, ces deux techniques ne nous ayant pas fourni de résultats, pour nous étendre sur le test de migration leucocytaire dont les données nous semblent dignes d'être discutées.

Suivra l'exposé de nos résultats personnels dans la Polyarthrite Rhumatoïde.

Nous concluerons par quelques réflexions que nous indiquent ces résultats, et sur ce qui nous semble devoir être l'orientation des travaux à venir.

JUSTIFICATION THEORIQUE

DE NOTRE ETUDE

2.I. PATHOGENIE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOIDE

De nombreuses hypothèses ont été formulées au cours des dernières décades pour expliquer la pathogénie de la polyarthrite rhumatoïde. Seules deux sont encore à l'étude actuellement.

2.I.I. LES HYPOTHESES ABANDONNEES

a) PONCET, au début du siècle, incrimina la tuberculose Cette idée fut à l'origine de l'emploi des sels d'or dans la polyarthrite rhumatoïde (I929) car on les croyait actifs dans la tuberculose.

b) Puis, en I930, on envisagea la responsabilité éventuelle de l'infection streptococcique, pour la polyarthrite rhumatoide comme pour le Rhumatisme articulaire aigu. Mais, tandis qu'elle s'imposait progressivement dans cette maladie, il devint peu à peu évident qu'elle ne pouvait être soutenue pour la polyarthrite rhumatoide.

Cependant, le sérum des polyarthritiques a des propriétés agglutinantes sur le streptocoque (CECIL I930), que l'on pensait d'abord être spécifiques du germe, mais qui sont en fait dirigées contre les propres gamma globulinesG du sujet, plus précisément contre le site antigénique Gm de celles-ci (GRUBB et LAURELL I956) ; le streptocoque ne joue que le rôle d'indicateur de la réaction car les gamma-globulines antigéniques pour le sérum de polyarthritique sont fixées sur le germe, qui transforme ainsi la précipitation de ces gamma-globulines en agglutination.

Les travaux ultérieurs de WAALER puis de ROSE sur des hématies sensibilisées par des gamma-globulines prouvèrent que cette propriété agglutinante est due à la présence, dans le sérum de 80 % des polyarthritiques, d'une macro-globuline, Ig M, jouant le rôle d'anticorps vis-à-vis des Ig G.

Ainsi furent découverts le facteur rhumatoide et les groupes G m, fondement des groupes sériques humains.

c) Les théories neuro-végétatives furent rapidement abandonnées devant l'échec des traitements sympatholytiques.

d) Enfin, en 1949, la découverte de l'action de la cortisone devait ouvrir le champ aux théories de l'adaptation de SELYE. La polyarthrite rhumatoide était considérée comme secondaire à un dysfonctionnement du couple hypophyso-surrénalien entraînant un déficit sécrétoire en gluco-corticoides (qui s'atténue pendant la grossesse ou l'hépatite), et au contraire un excès en minéralo-corticoides, dont l'effet arthrogène semblait prouvé par l'action expérimentale phlogogène de la DOCA sur le rat. Mais l'étude de la physiologie du couple hypophysosurrénalien chez les polyarthritiques (en particulier les dosages hormonaux), et l'action purement symptomatique, "superficielle", des gluco-corticoides devaient bientôt démentir cette théorie.

2.I.2. LES HYPOTHESES A L'ETUDE

Ce sont l'hypothèse auto-immunitaire et l'hypothèse virale

2.I.2.I. HYPOTHESE AUTO IMMUNITAIRE

2.I.2.I.I. Plusieurs faits militent en faveur du caractère <u>immunologique</u> de l'affection

A - Des arguments anatomo-pathologiques

1) L'infiltration lymphoplasmocytaire des lésions rhumatoides (et en particulier de la synoviale) réalise un afflux local de cellules connues

pour être "immunologiquement compétentes" ; elle rappelle d'une part les affections auto-immunes expérimentales et en particulier la thyroidite auto-allergique expérimentale, et d'autre part les affections humaines que l'on sait ou que l'on soupçonne être immunes, ou auto-immunes telles

1 - la thyroidite de Hashimoto

2 - l'hépatite lupoide

3 - le syndrome de Sjögren

2) 20 à 30 % des malades sont porteurs de nodules rhumatoides dont les cellules périphériques sont des cellules inflammatoires mono-nucléées.

3) Les organes lymphoides (rate, ganglions lymphatiques) sont fréquemment hypertrophiés dans la maladie rhumatoide ; or cette hypertrophie est en rapport avec l'hyperplasie des aires paracorticales des ganglions, et des manchons lymphatiques de la rate, toutes zônes plus spécialement impliquées dans la réponse immunitaire retardée.

4) Les polyarthrites sévères présentent des phénomènes d'artérite, prêtant à rapprochement des vasculites allergiques, que l'on retrouve en particulier au sein du nodule rhumatoide (SOKOLOFF 1953)

B - Des arguments histochimiques

1) La production locale de gamma-globulines par la synoviale rhumatoide a pu être prouvée par l'immuno-fluorescence (KAPLAN 1959 ; MELLORS 1959) et par la culture in vitro de fragments de synoviale en présence d'acides aminés marqués (ZIFF et coll.) ; il n'existe pas d'autre exemple d'arthrite avec production locale de gamma-globulines.

2) L'étude en immuno-fluorescence de la synoviale révèle des dépôts intra-cellulaires de complexes immuns faits de gamma-globulines et des fractions C'3 - (B_1C) et C'4 - (B_1E) du complément (RODMAN ; GOOD ; BRANDT). La présence du complément laisse supposer que les IgG sont altérées. Notons que les synoviales arthrosiques n'ont ni immuno-globulines, ni complément, et que les synoviales reitériennes n'ont que des immuno-globulines. Seules les synoviales lupiques ont, comme les synoviales rhumatoïdes, des immuno-globulines et du complément.

3) Le centre nécrotique des nodules rhumatoïdes est riche en gamma-globulines tandis que les cellules mono-nucléées lympho-plasmocytaires contiennent du facteur rhumatoïde (MELLORS 1959).

C - Des modifications sériques

Il existe une hyper-gamma-globulinémie parfois importante, le plus souvent faite d'IgG. Ce n'est que dans les formes sévères de maladie rhumatoïde que l'augmentation de l'IgM est patente. Quant à l'augmentation des IgA décrite par plusieurs auteurs, elle est discutée (CLAESSENS ; SERRE).

D - L'étude du liquide synovial

1) La présence de Ragocytes (RAWSON ; DELBARRE), suggéra à HOLLANDER une hypothèse physio-pathogénique. Il s'agit de polynucléaires contenant de nombreuses vacuoles de phagocytose, dont les plus visibles, les plus volumineuses, prennent le sérum anti IgG, ou le sérum anti IgM, ou les deux à la fois. HOLLANDER retrouva du facteur rhumatoïde même dans des cellules synoviales de polyarthrites rhumatoïdes séro-négatives.

L'existence de complexes immuns dans les cellules du liquide synovial, la reproduction expérimentale des ragocytes in vitro en incubant des leucocytes normaux avec du facteur rhumatoide complexé avec des IgG dénaturées, la possibilité de susciter l'atteinte d'un genou jusque là indemne chez un rhumatisant en injectant dans l'articulation des IgG autologues (RESTIFO), tous ces arguments suggéraient que la physio-pathogénie de l'arthrite rhumatoide relevait de la phagocytose des complexes immuns IgG-IgM, par les polynucléaires synoviaux, cette phagocytose entraînant à la manière d'une crise de goutte, la libération de substances inflammatoires.

Cependant, la présence dans les ragocytes de nombreuses autres inclusions, non visibles en microscopie optique, de phagocytose de débris divers, suggérant que la phagocytose n'est qu'un épiphénomène de "nettoyage" et surtout l'existence de ragocytes dans de nombreuses autres arthrites (psoriasiques, reiteriennes, septiques) enlève aux ragocytes une grande partie de leur signification spécifique.

2) La chute du complément dans le liquide synovial très caractéristique de la polyarthrite rhumatoide (HEDBERG) est un argument d'autant plus important en faveur d'un conflit immunologique local, que le taux du complément sérique est normal ou élevé, fonction du potentiel inflammatoire. Ce sont surtout les fractions dites "critiques", C'4 (B_1E) (POSTIROPOULOS) et C'1 (B_1C) (ZVAIFLER, PEKIN) qui sont abaissées, suggérant la formation de complexes immuns dans l'articulation.
D'ailleurs, le liquide synovial possède un pouvoir anti-complémentaire élevé (PELTIER), en rapport probable avec la présence de substances fixant le complément, c'est à dire de complexes immuns.

3) L'ultra-centrifugation du liquide synovial permet d'isoler d'une part des complexes gamma-globuliniques intermédiaires (de coefficient de sédimentation compris entre 7 S. et I9 S.), faits d'IgG, d'autre part des complexes lourds, de coefficient supérieur à I9 S., résultant probablement de l'union du facteur rhumatoïde et de molécules d'immuno-globulines G.

4) On observe une réaction de précipitation quand on met en présence du liquide synovial riche en complexes intermédiaires faits d'IgG et du facteur rhumatoïde ou la fraction C_1q du complément.

E - Le Facteur Rhumatoïde

Le facteur rhumatoïde est un anticorps anti IgG que l'on trouve : dans le sang

à un taux moindre, dans le liquide synovial.

C'est dans la grande majorité des cas une IgM que l'on décèle par la réaction de Waaler Rose ou la réaction du latex, utilisant des particules visibles (hématies ou latex) sur lesquelles sont fixées des IgG. Plus rarement, il s'agit d'une IgG.
C'est en fait, dans tous les cas, un groupe hétérogène d'anticorps comme le prouve la réactivité croisée avec diverses immuno-globulines animales. Des techniques plus fines que le test de Waaler Rose ou le test au Latex sont parfois nécessaires pour le retrouver :

- recherche radio-immunologique
- fractionnement sur colonne
- immuno-fluorescence (PELTIER)

Il n'en demeure pas moins un certain pourcentage de cas où il semble absent.

De plus, on le trouve dans d'autres états hyper-immuns, en particulier dans certaines maladies infectieuses.

En outre, il n'apparaît pas avant le sixième mois de la maladie.

Enfin, bien qu'il soit souvent corrélé avec la gravité de la maladie, il n'est pas pathogène, comme le prouvent :

1 - la fréquence des "porteurs sains" de facteur rhumatoïde

2 - les expériences d'injection à des volontaires. (Une seule exception : la présence de dépots de complexes immuns dans les parois vasculaires lors des angéites nécrosantes des polyarthrites rhumatoïdes sévères.

3 - son absence dans les polyarthrites rhumatoïdes séronégatives.

4 - sa disparition longtemps après l'extinction éventuelle de la maladie.

2.I.2.I.2 La nature <u>auto-immune</u> de la maladie est évoquée par

a) Le caractère d'auto-anticorps du facteur rhumatoïde, qui est doué d'une autre spécificité contre le groupe Gm porté par les chaines lourdes des propres gamma-globulines du malade.

- L'ultra-centrifugation du sang de polyarthrites rhumatoïdes sévères avec angéite permet d'isoler des complexes 22 S. comprenant une molécule d'IgM (facteur rhumatoïde) fixé à 5 molécules d'IgG.

- On a décrit quelques cas de syndrome d'hyperviscosité sérique au cours de la polyarthrite rhumatoïde (syndrome d'hyperviscosité rhumatoïde) caractérisés par une polyarthrite nodulaire, avec diathèse héporragique hyperviscosité sanguine et titre de F.R. très élevé, dans lesquels on

a isolé des complexes formés d'une molécule d'IgM liée à des complexes intermédiaires d'IgG de coefficient de sédimentation supérieur à 22 S., une molécule d'IgM pouvant apparemment lier 5 complexes intermédiaires puisque l'IgM est pentavalente (JASIN).

Divers arguments laissent penser que la plupart des facteurs rhumatoïdes réagissent plus avidement envers les gamma-globulines dénaturées, mais ils semblent aussi réagir à un degré moindre avec les IgG natives.

Cependant, on trouve aussi le facteur rhumatoide dans des affections non auto-immunes :

- chez l'animal hyperimmunisé
- chez l'homme

x dans de nombreuses maladies infectieuses ou parasitaires

- Osler
- Syphilis
- Lèpre
- Tuberculose
- Grippe
- Trypanosomiase
- Leishmaniose
- Kala-azar

x dans de nombreux états inflammatoires

- Cirrhose
- Maladie de Besnier-Boeck-Schaumann

Dans tous ces cas, le facteur rhumatoïde n'a aucun rôle pathogène. Enfin, il n'est pas dirigé exclusivement contre les IgG du malade.

Il semble finalement que le facteur rhumatoïde puisse être une réaction immunologique normale de l'organisme à la présence prolongée

de complexes immuns circulants.

b) Mais le facteur rhumatoïde n'est pas le seul auto-anticorps présent dans cette maladie :

- 25 % environ des polyarthrites rhumatoïdes ont des facteurs anti-nucléaires (à des taux inférieurs à ceux rencontrés dans la maladie lupique) et non corrélés avec ceux du facteur rhumatoïde), qui donnent en immunofluorescence des aspects différents suivant la fraction contre laquelle ils sont dirigés :

. Fluorescence homogène pour les F A N anti-nucléoprotéines (D.N.A. - histone).

. Fluorescence mouchetée pour les F A N dirigés contre les protéines solubles du noyau.

. Beaucoup plus rarement dans la polyarthrite rhumatoïde, fluorescence périphérique ou fluorescence nucléolaire. Bien que la présence de facteur anti-nucléaire reflète la gravité de l'affection, on n'a jamais pu démontrer le rôle cytopathogène des facteurs anti-nucléaires.

- On a signalé de façon exceptionnelle d'autres auto-anticorps tels que les anticorps :

. anti-thyroidiens

. anti-muqueuse gastrique

. anti-collagène

. anti-aorte (CROUZET)

c) La présence à un taux élevé d'auto-anticorps, en particulier de facteurs anti-nucléaires et parfois, l'existence de cellules de Hargraves renforce la parenté qui existe entre polyarthrite et lupus, parenté étiologique, clinique, anatomique et biologique, sur laquelle

nous ne reviendrons pas. Or, la plupart des auteurs s'accordent à reconnaitre au lupus une pathogénie au moins partiellement auto-immune. Mais, à l'inverse, des maladies proches de la polyarthrite rhumatoide (spondylarthrite ankylosante, rhumatisme psoriasique) n'ont pas d'auto-anticorps.

d) La polyarthrite rhumatoide est fréquemment associée à des maladies auto-immunes dont la plus typique est la thyroïdite de Hashimoto. Cependant, des statistiques récentes mettent en doute le caractère significatif de la fréquence de cette association.

Par contre, l'association à un syndrome de Gougerot-Sjögren revêt, une fréquence significative. Or, les lésions histologiques observées dans ce syndrome sont très proches de celles de la thyroïdite de Hashimoto qui demeure le type des maladies auto-immunes.

e) L'idéal serait de démontrer la ressemblance de la polyarthrite rhumatoide avec un modèle expérimental de polyarthrite. Or, si la polyarthrite du rat à l'adjuvant de FREUND présente bien quelques traits communs avec la polyarthrite rhumatoïde, elle en diffère par plusieurs caractères cliniques et anatomiques importants.

f) Le phénomène de la rosette rhumatoïde (DELBARRE, DELRIEU BACH) est un phénomène de reconnaissance par les lymphocytes du sujet, des gamma-globulines, considérées comme partageant des déterminants antigéniques avec les gamma-globulines autologues (réaction d'identité partielle ou réaction croisée).

On le trouve positif aussi bien dans les polyarthrites rhumatoïdes séro-négatives que dans les polyarthrites rhumatoïdes séro-positives.

Cependant : Il n'est positif que dans 65 à 69 %

Il est positif dans de nombreuses autres affections

g) Enfin, plusieurs faits plaident en faveur d'une hypersensibilité de type retardé, dirigée en particulier contre les IgG du sujet.

Outre l'aspect anatomique des lésions, divers travaux ont testé la réactivité retardée des polyarthritiques vis à vis d'antigènes supposés : extraits de synoviale, gamma-globulines, acides nucléiques dont nous citerons quelques exemples.

I - BRAUNSTEINER en I96I a étudié les réactions cutanées de I7 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde, vis à vis d'extrait synovial et a trouvé une réaction positive chez I5 d'entre eux, la fraction responsable se trouvant dans le culot de centrifugation. La réaction est positive chez 7 des 33 sujets témoins, présentant une cirrhose (4 sujets)
un lupus (2 sujets)
une hépatite chronique (1 sujet)

II - BRAUNSTEINER retrouve en I964 un effet cytotoxique du lymphocyte ganglionnaire de polyarthritique sur les cellules amniotiques humaines in vitro.

III - SUKERNICK en I968 démontre le même effet cytotoxique des lymphocytes sanguins vis à vis des cultures de fibroblastes humains.

IV - MOENS ne réussit pas à mettre en évidence de transformation blastique en cultivant les lymphocytes de polyarthritique en présence de liquide synovial arthrosique, rhumatoide ou lupique.(I968)

V - ROTHEN BERGER (I970) a fait successivement

- des tests de transformation lymphoblastique vis à vis d'extraits de synoviale rhumatoïde autologue et homologue chez des polyarthritiques sans noter d'élévation du pourcentage de transformation ni d'augmentation de l'incorporation de thymidine tritiée.

- des tests de migration leucocytaire (selon la technique de Soborg et Bendixen) vis à vis des mêmes extraits il note une inhibition de la migration dans I6 cas de polyarthrite rhumatoïde sur 23, mais chez aucun des 11 témoins. Il faut cependant faire remarquer que seuls 11 des 23 polyarthrites rhumatoïdes ont un indice de migration inférieur à 0,75 (limite exigée par la plupart des auteurs pour affirmer l'inhibition, alors que ROTHEN BERGER compte parmi les inhibitions tous les indices de migration inférieurs à 1).

VI - RYCKEWAERT et collaborateurs, étudiant la réactivité cutanée des polyarthritiques, trouvent une réponse normale aux antigènes streptococcique, ourlien, candidien et au DN6B, alors que la réponse à la tuberculine est significativement moins fréquente chez les polyarthritiques que chez les témoins. Il n'y a pas, selon eux, de réactivité cutanée à l'égard de l'A.D.N. (contrairement à l'opinion d'AZOURY et HESS). Ils notent par contre une réactivité cutanée plus fréquente à l'égard des gamma-globulines, isologues, normales ou dénaturées par la chaleur.

VII - Enfin, SERRE et SIMON (I972) confirment que l'hypersensibilité retardée des polyarthritiques est normale. Même la tuberculine provoque une réaction cutanée, une transformation lymphoblastique et une inhibition de la migration leucocytaire dans des proportion comparables à

celles de séries témoins. Par contre, ils ne répondent pas en test de migration leucocytaire, à l'A.D.N. Les gamma-globulines isologues natives, pures provoquent au contraire une inhibition de la migration dans cent pour cent des cas, contre zéro pour cent chez les témoins.

Les deux derniers travaux cités, témoignant d'une hyper-réactivité immunologique de type retardé vis à vis des gamma-globulines, semblent confirmer le rôle antigénique des immuno-globulines G dans la polyarthrite rhumatoïde. Il faut cependant, avant d'admettre cette hypothèse, faire remarquer qu'ils utilisent tous deux des gamma-globulines isologues, qui sont peut-être douées d'une réactivité propre envers le tissu cutané ou les leucocytes des malades testés. Il serait donc souhaitable de vérifier la reproduction des résultats obtenus en utilisant les propres gamma-globulines du sujet comme antigènes.

2.1.2.2. HYPOTHESE VIRALE

Elle repose sur des faits hétéroclites.

A - En 1969, WARREN et collaborateurs injectent à des souriceaux inbred WEBSTER-SWISS nouveaux-nés, par voie intra-péritonéale, un homogénat, en solution saline, de biopsies de synoviales humaines rhumatoïdes.

62 % des souriceaux inoculés présentent des lésions inflammatoires des pattes et de la queue (qui durent quelques jours avant de disparaître, pour récidiver parfois à 1, 2 ou 6 mois, préludat à l'installation de déformations du rachis et des membres comparables à celles rencontrées dans l'arthrite rhumatoïde.

On croise entre elles les souris inbred de cette première génération : 42 % de leurs descendants présentent les mêmes lésions.

Après inoculation des animaux indemnes, le croisement donne, dans la troisième génération, 44 % d'arthrites.

On croise alors les animaux sans nouvelle inoculation : 51,4 % sont atteints dans la quatrième génération, 55,4 % dans la cinquième génération.

L'étude histologique montre des lésions congestives des capsules, des lésions des cellules musculaires et endothéliales vasculaires. Un animal s'avère présenter des lésions rhumatoïdes typiques.

On vérifie qu'aucun des animaux injectés avec du tissu non rhumatoïde ne présente d'arthrite.

Les auteurs concluent à l'existence dans le tissu rhumatoïde humain d'un "facteur actif" transmissible par injection et de façon congénitale.

La mère peut transmettre cet agent à sa descendance alors qu'elle-même n'est en apparence pas touchée.

L'expérience soulève l'intérêt des chercheurs. Mais, à ce jour, aucun n'a pu confirmer ces résultats.

B - Pourtant, il existe de nombreux arguments indirects en faveur d'une origine virale

1) La fréquence avec laquelle la polyarthrite rhumatoide est précédée par un épisode infectieux, en particulier des voies respiratoires supérieures , a été soulignée par de nombreux auteurs

2) L'allure inflammatoire de la maladie

- avec ses signes locaux (douleur, chaleur, rougeur, tuméfaction)
- et généraux (fièvre, augmentation de la vitesse de sédimentation et du taux de gamma-globulines, polynucléaires, neutrophiles fréquemment rencontrée au début de l'affection, abaissement du fer sérique et du taux de sidérophiline, élévation de la cuprémie)

évoque un processus infectieux qui, devant la négativité constante des recherches bactériologiques, pourrait être un processus viral.

3) L'étude morphologique des cultures cellulaires de synoviale rhumatoïde (BARTFELD) révèle des altérations cellulaires évocatrices d'un processus viral.

4) L'étude du métabolisme des cellules de synoviale rhumatoïde en culture objective des anomalies qui sont transmises aux cellules filles.

Ainsi CASTOR, en I966 note que la cellule rhumatoïde est peu sensible à l'action dépressive de l'hydrocortisone sur la synthèse de l'acide hyaluronique et du collagène, et que cette anomalie se retrouve sur 20 générations.

HAMERMAN en I967 constate de façon identique la transmission d'une hyperactivité catabolisante aboutissant à la déplétion de la

substance fondamentale cartilagineuse en complexes protéine-polysaccharides.

GOLDFISHER en I968 observe sur 7 repiquages une hyperactivité des phosphatases acides, de la béta-glucosaminidase et de l'arylsulfatase.

La transmission, par filiation, d'anomalies métaboliques évoque une altération du génome, dont l'une des causes connues est l'infection virale. En l'occurence, il n'existe pas de preuve formelle de la responsabilité d'un virus dans la Genèse et la transmission de ces anomalies.

5) L'infestation d'une culture de fibroblastes par certains virus (polyome , sarcome de Rous) entraine une augmentation de la synthèse d'acide hyaluronique semblable à celle que l'on rencontre dans la polyarthrite rhumatoide. Cependant, cette augmentation est inconstante ; elle est parfois remplacée par une diminution.

6) Les cellules synoviales rhumatoïdes sont résistantes aux infections virales expérimentales. On sait qu'une cellule infectée par un virus sécrète de l'interféron qui empêche un virus d'une autre espèce de la pénétrer.

SMITH et GRAYZEL ont en I969 exposé des synoviocytes sains et des synoviocytes rhumatoïdes au virus de Newcastle : moins de 60 % des cellules rhumatoides furent contaminées, contre 70 à 85 % de cellules saines.

Ils ont aussi exposé I4 souches de synoviocytes rhumatoides et 2I souches de synoviocytes sains au virus de la rubéole :

- les souches rhumatoides ne "prennent"pas le virus
- alors que toutes les souches saines montrent un effet cytopathogène.

Ainsi, les cellules des synoviales rhumatoïdes font preuve d'un état réfractaire à l'infection virale, qui laisse penser sans le prouver, qu'elles sont peut-être déjà infectées.

7) L'inhibition de la polyarthrite du rat à l'adjuvant de Freund par le Stratolon et le Pyran, s'ils sont injectés dans la semaine qui suit l'injection sensibilisante (KAPUSTA) plaiderait en faveur de l'infection virale à condition

1 - d'admettre que ces produits sont réellement anti-viraux. KAPUSTA démontre seulement qu'ils induisent la synthèse d'interféron et qu'ils n'agissent ni comme anti-inflammatoires, ni comme immuno-suppresseurs, puisqu'ils n'abolissent pas les réaction cutanées aux antigènes.

2 - d'admettre surtout l'identité de la polyarthrite rhumatoïde et de la polyarthrite à l'adjuvant(or ces affections sont assez différentes l'une de l'autre aussi bien sur le plan clinique que sur le plan histologique), et le support pathogénique le plus probable de la polyarthrite à l'adjuvantest un mécanisme d'immunité retardée.

8) La connaissance récente des maladies "à virus lent", constitue un argument de poids pour la théorie virale de la polyarthrite rhumatoïde.

On connaît en effet depuis longtemps dans l'espèce humaine des exemples d'arthrite virale

Ainsi les arthrites de la rubéole
de la variole
des oreillons
de l'hépatite épidermique

Mais il s'agit en général d'arthrites aigues, guérissant rapidement sans séquelle.

Ce caractère chronique, constituait jusqu'à ces dernières années une objection fondamentale à la théorie virale de la polyarthrite rhumatoide. On ne pouvait imaginer une virose qui ne se termine pas rapidement, soit par guérison (avec ou sans séquelle), soit par la mort rapide du sujet.

Or certaines maladies récemment décrites telles
la maladie des souris NZB (I963)
la maladie aléontienne des visons bleus (I958) (qui comportent une profusion de phénomènes auto-immunitaires) mais aussi
la sérapie des moutons d'Ecosse (dont l'incubation dure I à 5 ans)
la visna et la macdi des moutons d'Islande
le Kuru des tribus de Nouvelle Calédonie sont autant d'exemples d'affections virales chroniques ;

MELLORS et CHEN YA HUANG sont les premiers à avoir démontré la nature virale de la maladie des souris NZB en I966.

9) Des inclusions semblables à des myxovirus ont été mises en évidence dans diverses connectivites

a - dans la sclérodermie : cellules de l'endothélium vasculaire des muscles striés (KODESKU I966)

b - dans la polymyosite : cellules de l'endothélium vasculaire des muscles striés et de la peau (CHOU I967; NORTON I967)

c - dans le lupus érythémateux disséminé

. dans le cytoplasme des cellules endothéliales vasculaires du rein (GYORKEY I969), des muscles (NORTON I969), du derme (NORTON I969) de la synoviale (SCHUMACHER I970)

. dans les cellules mononucléées du sang périphérique (GYORKEY I97I ; BARIETY I97I)

Les parentés cliniques et biologiques qui unissent la polyarthrite rhumatoide et ces connectivites majeures rendent plausible l'existence d'une infection virale dans la polyarthrite, à condition que l'on démontre auparavant que l'infection virale n'est pas un épiphénomène dans ces connectivites.

Tous les arguments exposés dans ce paragraphe sont des arguments indirects, et en 1969, AMOR, passant en revue une dizaine de travaux de recherche de virus dans la maladie rhumatoide ne recense que des échecs.

C - Enfin SERRE, SIMON et Madame MANDIN (Montpellier) rapportent, à la séance du 15 décembre 1971 de la Ligue Française contre le Rhumatisme, avoir mis en évidence un paramyxovirus dans la synoviale rhumatoide.

Ils réalisent une coculture en couche monocellulaire de fibroblastes et de synoviocytes sains en milieu Eagle enrichi de sérum de veau foetal, sur laquelle ils ensemencent un fragment de synoviale prélevé extemporanément lors d'une ponction biopsie.

Après plusieurs semaines, ils observent au microscope optique un effet cytopathogène sur le fibroblaste, et l'apparition d'inclusion intra-nuclaire.

Le microscope électronique, après extraction du matériel supposé viral, révèle un corpuscule en hélice de 18 mμ de diamètre, semblable aux myxovirus.

Cette recherche s'avère positive 8 fois sur 8 dans la polyarthrite rhumatoide, négative 8 fois sur 8 chez le sujet sain.

Dans l'attente de la confirmation de ces résultats, la seule réserve à émettre nous semble qu'il faut s'assurer de la nature véritablement virale de l'inclusion. On sait en effet que des inclusions peuvent

apparaître dans le noyau de certaines cellules dans diverses circonstances, par exemple après action du "Migration inhibitory Factor"
Or, la synoviale rhumatoïde est, répétons-le, le siège d'un conflit auto-immun de type cellulaire, et il est probable qu'une certaine quantité de M.I.F. y est secrétée.

2.I.2.3. ESSAI DE SYNTHESE

L'hypothèse auto-immune et l'hypothèse virale, actuellement à l'étude dans la pathogénie de la polyarthrite rhumatoïde ne s'excluent pas forcément l'une l'autre. On saisit en effet actuellement quelques unes des relations existant entre certaines viroses et certains phénomènes immunitaires.

- L'étude des souris de souche NZB en est le plus frappant exemple. On sait que ces souris présentent toutes, vers l'âge de 4 mois, une anémie hémolytique auto-immune (transmissible à des souris d'autres souches par injection de lymphocytes). Les souris NZB meurent vers 36 mois soit de glomérulonéphrite très semblable à la néphrophathie lupique, soit de tumeur lymphoide.

Or, la maldie des souris NZB, caractérisée par la profusion des phénomènes auto-immunitaires, est transmissible à d'autres souches par greffe d'un thymus de souris NZB. On admet à l'heure actuelle le rôle de l'infection virale du thymus de ces animaux.

- On sait par ailleurs qu'une infection virale peut stimuler la sécrétion d'anticorps (ainsi la mononucléose infectieuse). D'ailleurs dans la mononucléose humaine à cytomégalovirus, on observe des réactions cellulaires et humorales réactionnelles à un virus caractérisé (KLEMOLA 1969)

- On peut aussi imaginer qu'un virus, se multipliant dans la cellule, incorpore à son enveloppe un antigène cellulaire. Si l'organisme s'immunise contre ce virus, il est possible qu'il s'immunise aussi contre l'antigène tissulaire incorporé.

- Inversement, l'on connait des exemples d'altération du caryotype,lors d'affections virales, en relation avec les perturbations du gouvernement métabolique de la cellule. On peut donc imaginer que l'infection virale puisse rendre une cellule auto-antigénique, ou bien dévier la "réactivité" d'une cellule immunologiquement compétente et soumettre à l'agressivité d'un clone cellulaire des constituants normaux de l'organisme.

Le but de nombre de travaux actuels est de préciser les relations qui existent entre viroses, tumeurs (dont la nature virale de certaines est connue chez l'animal) et maladies auto-immunes (qui s'associent parfois à des tumeurs lymphopoiétiques).

2.2 ETUDE DES PRINCIPAUX TESTS D'HYPERSENSIBILITE RETARDEE

2.2.I. Réactions cutanées retardées

Elles constituent actuellement le test de référence en matière d'hypersensibilité retardée, et la signification des tests in vitro (T.T.L.; T.M.L.) a pu être déduite de la comparaison des résultats obtenus in vitro et in vivo.

2.2.I.I. Historique

a) C'est de l'étude de la tuberculose expérimentale du cobaye par Robert KOCH qui découlent à la fois les premières notions sur l'hypersensibilité retardée et la connaissance de la valeur sémiologique des réactions cutanées.

Rappelons, simplement pour mémoire, le phénomène de KOCH : En I89I, KOCH note que, si l'on inocule à un cobaye sain par voie intra-dermique, une suspension de bacilles tuberculeux vivants, un nodule apparaît au point d'inoculation entre le dizième et le quatorzième jours, qui augmente de taille et s'ulcère tandis que les germes envahissent l'organisme par voie lymphatique avant de tuer l'animal. Cependant, si 4 semaines après la première inoculation, l'on réinjecte des bacilles tuberculeux vivants la réaction cutanée locale à cette réinoculation est plus précoce puisqu'elle apparaît 24 à 48 heures après ; elle ne donne qu'une ulcération superficielle qui cicatrise rapidement ; enfin, les germes de réinoculation ne se répandent pas dans l'organisme.

Ce phénomène, appelé phénomène de KOCH, qui réalise une manière différente de réagir, une allergie, est un phénomène

d'hypersensibilité à une protéine bacillaire et non un phénomène infectieux. En effet, la tuberculine, protéine extraite des Bacilles de Koch, injectée à un animal tuberculisé, produit la même réaction locale, (infiltration rouge qui se nécrose rapidement) que l'infection de seconde intention déjà décrite, alors que, injectée à un animal non tuberculisé, elle ne provoque pas cette réaction.

b) Les travaux ultérieurs devaient montrer que l'hypersensibilité tuberculinique peut être produite avec un bacille avirulent (CALMETTE) ou tué et incorporé dans de l'huile minérale (OLCOTT, FREUND)

Par contre, si la tuberculine peut révéler la "sensibilisation" du sujet au bacille tuberculeux, elle ne peut à elle seule induire cette sensibilité.

Il en est de même des bacilles tuberculeux dégraissés par l'éther et le chloroforme, et S. RAFFEL d'une part, CHOUCROUN d'autre part ont montré que les corps bactériens contiennent une lipoprotéine , la cire D, indispensable pour rendre la tuberculine immunogène.

c) Diverses techniques pour tester la réactivité dermique furent mises au point :

- cuti-réaction par scarification (VON PIRQUET 1907, reprenant la technique de BLACKLEY 1873)
- percuti-réaction (MORO)
- patch-test (VOLLMER)
- piqûres superficielles multiples (HEAF)

cependant que MANTOUX et MANDEL précisaient en 1908, indépendamment l'un de l'autre <u>l'intra-dermoréaction</u> : injection intradermique de 0,03 à 0,1 ml. de l'antigène ; cette technqieu étant la plus sûre de toutes.

d) On devait par la suite démontrer l'existence d'une réactivité cutanée en tous points semblable à celle du phénomène de KOCH dans de nombreux autres états :

x non seulement infectieux (brucellose, salmonelloses, tularémie, coqueluche, streptococcies, lèpre, vaccine, herpès)

parasitaires (Leishmaniose, toxoplasmose, coccidiose echinococcose)

mycosiques (moniliase, trichophytie)

x mais aussi dans les hypersensibilités expérimentalement provoquées aux substances non bactériennes. DIENES et SCHOEN HEIT ont montré que l'injection de protéines dans une lésion tuberculeuse de cobaye détermine l'apparition, 5 jours après, d'une sensibilisation de l'animal à ces protéines, révélable par une réaction cutanée en tous points identiques à la réaction tuberculinique. Les travaux de ces auteurs, qui ont reçu depuis, de nombreuses confirmations, démontrent le caractère adjuvant du bacille tuberculeux, en particulier de sa cire D, dans l'induction de l'hypersensibilité de type retardé, spécifique à l'antigène injecté. On peut aussi induire une hypersensibilité de type retardé en injectant l'antigène après fixation de son anticorps (complexe immun)

x De plus, ces dernières années ont vu s'allonger la liste des affections supposées relever d'une hypersensibilité retardée, dont un groupe spécial est constitué par les affections auto-immunes. Les énumérer nous ferait sortir de notre propos (Nous verrons en étudiant la pathogénie de la polyarthrite rhumatoïde les arguments en faveur de l'origine auto-immune de cette maladie). Il est cependant important de signaler que, parmi les

critères d'hypersensibilité, qu'il s'agisse ou non d'auto-immunisation, la positivité des réactions cutanées à l'antigène supposé tient la première place (à condition de s'assurer du caractère immunologique de la réactivité).

x Enfin, on a démontré qu'un individu normal d'un certain âge présente une réaction d'hypersensibilité retardée vis à vis de plusieurs antigènes très répandus ou au moins vis à vis d'un certain nombre d'entre eux : candidine, streptokinase, streptodornase trichophyton, tuberculine.
Les réactions cutanées sont donc un moyen simple, rapide, et sûr d'être renseigné sur l'état immunitaire d'un sujet donné. Ceci est précieux :

- dans les hémopathies (Hodjkin)
  (dans les maladies des lymphocytes en particulier)
- dans tous les états néoplasiques : EILBER et MORTON.

Ces auteurs ont employé une technique récente qui consiste à placer sur la peau une goutte de dinitrochlorobenzène. Ce corps est doué d'une forte réactivité avec les protéines. Pénétrant dans le derme, il se combine avec elles et devient antigénique. Le sujet réagira à un second contact par une réaction cutanée retardée qui reflète son potentiel d'hypersensibilité retardée.

e) Enfin et surtout, on devait préciser les caractères propres à la réaction cutanée d'hypersensibilité retardée, qui se confondent avec ceux de l'hypersensibilité retardée elle-même.

2.2.I.2. Caractères des réaction cutanées d'hypersensibilité retardée.

2.2.I.2.I. Délai d'apparition après la sensibilisation

Elle est très variable avec l'antigène :

- 3 à 8 semaines dans la tuberculose
- 5 à 7 jours pour d'autres antigènes

2.2.I.2.2. Délai d'apparition après la scarification ou l'injection révélatrice :

Ce délai est en général de 24 à 48 heures.

La réaction peut-être plus précoce : 6 heures et doit alors être interprétée avec prudence, en discutant la possibilité d'un phénomène d'Arthus, ou plus tardive : 4 jours ou plus.

Ce délai est donc beaucoup plus long que celui qui caractérise l'hypersensibilité immédiate (ou anaphylactique), dont la réponse à l'injection intra-dermique d'antigène apparait entre 30 et I20 minutes.

2.2.I.2.3. Aspect de la réaction

Elle comporte 2 éléments : un érythème, entourant une papule oedémateuse, indispensable pour affirmer la positivité.

La réaction est en effet positive si il apparait une papule de 5 mm. de diamètre au moins. Au maximum, il s'agit d'un nodule de I à 2 cm, entouré d'une aréole rosée, avec parfois quelques phlyctènes au centre.

2.2.I.2.4. Spécificité de la réaction

Bien que la spécificité de la réaction retardée ait été largement démontrée par des travaux antérieurs, des études récentes, utilisant des antigènes protidiques conjugués avec les haptènes ont apporté à cet égard des données nouvelles. Il a été montré récemment que dans une protéine conjuguée, la réaction retardée, à l'inverse des anticorps est dirigée contre la protéine porteuse (BENACERRAF).

2.2.I.2.5. Anatomie de la réaction cutanée

Macroscopiquement, il s'agit, nous l'avons vu, d'une lésion érythématopapuleuse, parfois nécrotique.

Microscopiquement, on note un infiltrat cellulaire périvasculaire s'étendant au derme et à l'épiderme ; fait d'abord de macrophages et de petits lymphocytes, il comporte ensuite essentiellement des cellules mononucléées plus volumineuses. Des nécroses cellulaires peuvent se voir dans les réactions sévères.

2.2.I.2.6. Transfert passif de la réactivité cutanée retardée.

Il est impossible de transférer à un sujet non sensibilisé la réaction cutanée de type retardé par l'injection de sérum de sujet sensibilisé, à la différence de l'anaphylaxie et des autres réactions à anticorps circulants.

Par contre, CHASE (1945) a réalisé le transfert de l'allergie tuberculinique à un animal sain en injectant à celui-ci des cellules viables spléniques, ganglionnaires ou péritonéales provenant d'animaux tuberculisés. Quelques années auparavant LANDSTEINER et CHASE

avaient réalisé le transfert des dermatites de contact.

L'allergie adoptive apparait 24 heures après l'injection et persiste habituellement 5 à 7 jours, sauf chez les animaux inbred qui peuvent la conserver indéfiniment.

Les cellules participant à la réaction cutanée d'un animal sensibilisé passivement sont pour la plupart des cellules de l'animal receveur (plus de 90 %) et non les cellules sensibilisées du donneur (BLOOM et CHASE). Il semble que les cellules sensibilisées accumulées dans le site où l'antigène a été déposé, soient capables d'enrôler dans la réaction des macrophages non sensibilisés par la sécrétion active de substances protéiques solubles comme le prouve l'action inhibitrice de la mitomycine. Ces lymphokines, dont nous dresserons la liste dans l'étude du test de migration leucocytaire, ont pu être étudiées grâce aux réactions in vitro d'hypersensibilité retardée.
Parmi elles, citons d'emblée :

le skin reactive factor qui reproduit, lorsqu'il est injecté seul à un animal non sensibilisé, tous les caractères d'une réaction cutanée de type retardé.

le facteur chemotactique qui créé un appel de cellules non sensibilisées sur le lieu de la réaction.

le migration inhibitory factor qui fixe sur le lieu de la réaction les cellules non sensibilisées fraîchement arrivées.

Quant à la propriété de sensibilisation passive par injection de lymphocytes sensibilisés, elle est due à une lymphokine de faible poids moléculaire (4000), le transfer factor de Lawrence, qui apparait dans le surnageant d'une culture de lymphocytes sensibilisés en présence d'antigène ou par extraction de lymphocytes sensibilisés en l'absence de

l'antigène, et dont l'injection transmet une hypersensibilité étroitement spécifique de l'antigène.

2.2.I.2.7. Signification des réactions cutanées retardées en pathologie infectieuse.

L'évolution d'une réaction cutanée lors d'une réinjection bactérienne à un animal déjà infecté,permet de distinguer deux caractères :

1 - L'allergie, c'est à dire la réactivité différente par rapport à un sujet jamais infecté. Cette allergie a une valeur diagnostique : le sujet est actuellement ou a été autrefois infecté. Elle n'est pas liée à la présence d'anticorps sériques, mais à l'acquisition de propriétés nouvelles par les cellules.

2 - La prémunition, c'est à dire l'immunité relative d'un animal allergique vis à vis de germes de seconde intention. (C'est ainsi que le cobaye tuberculisé ne succombe que sous l'action des germes de première intention, alors qu'il détruit les seconds). Cependant, si le second apport est massif et très virulent, la défense cellulaire est débordée.

Cette prémunition est souvent transitoire, quand les germes de première intention ont disparu ; ainsi, l'allergie tuberculinique après vaccination au B C G s'éteint souvent après 5 ans.

2.2.I.3. Critique des réactions cutanées

La réaction intra-dermique est, nous l'avons dit, la réaction de référence en matière d'hypersensibilité retardée. C'est celle que nous discuterons et nous laisserons de côté les autres techniques (cuti-réaction etc...) qui, outre les réserves plus spécifiques qu'on peut formuler à leur égard, partagent les mêmes critiques que l'intra-dermo réaction.

a) Il ne faut pas prendre pour une réaction positive :

- une réaction de l'hypoderme à une quantité trop importante de liquide qui pénètre dans la région sous dermique
- une réaction toxique : nécessité de vérifier que la dose d'antigène utilisée ne donne pas de réaction chez un sujet non sensibilisé.
- la réaction a un produit irritant (que ce soit l'antigène ou le solvant, d'où la nécessité de faire des tests contrôles).
- la réaction non spécifique que l'on trouve dans certains états tels la maladie de Behcet
- la réaction spécifique au solvant
- une réaction immédiate

b) Le caractère quantitatif de la réaction intra-dermique est très approximatif, diverses cotations ayant été proposées suivant les dimensions de la papule et de l'érythème. On conçoit que ces dimensions soient fonction de la quantité d'antigène injectée. Il semble donc préférable de se baser sur la plus faible concentration d'antigène qui donne la première positivité.

c) Enfin, l'intra-dermo réaction, bien plus que la cuti-réaction, peut provoquer des réaction syndromiques nocives. Si ces réaction sont rares et ne prennent pas l'allure dramatique des accidents observés dans le cadre de l'hypersensibilité immédiate, il peut s'agir parfois de réactivations très ennuyeuses (par exemple, poussée d'iridocyclite dans l'allergie streptococcique).

2.2.2. Test de transformation lymphoblastique

2.2.2.I. Historique

Jusqu'en 1960, le petit lymphocyte était considéré comme une cellule parvenue au terme de son développement. Une découverte de NOWELL devait faire réviser ce concept.

NOWELL découvrit cette année-là la propriété qu'a le lymphocyte de se transformer en une cellule semblable au lymphoblaste en présence de phytohémagglutinine, substance extraite du haricot rouge (phaseolus vulgaris) utilisée par les hématologistes pour ses propriétés agglutinantes sur les hématies humaines

Les grandes cellules ainsi obtenues se caractérisent par :

- leur taille : 20 à 30 microns de diamètre
- la structure de leur noyau ; volumineux, riche en chromatine, nucléolé.
- la disposition,d'abord en rosette, puis dispersée, des ribosomes dans le cytoplasme
- la grande proportion de cellules en mitose
- leur apparition après 48 heures, leur nombre croissant jusqu'à la 72ème heure.

La transformation des lymphocytes s'accompagne d'un accroissement de synthèse d'ADN et d'ARN comme le prouvent les études autoradiographiques ou en scintillation liquide en présence de thymidine tritiée, ou d'uridine tritiée. La proportion de lymphocytes "transformés" atteint couramment 60-70 % , tous les intermédiaires se trouvant entre le lymphoblaste et le petit lymphocyte.

La ressemblance entre les grandes cellules ainsi obtenues et les immunoblastes observés dans les organes lymphoïdes d'un sujet après

une stimulation antigénique et la connaissance du rôle primordial des cellules lymphoïdes dans les mécanismes immunitaires amenèrent d'une part à étudier la transformation blastique des lymphocytes en présence de phytohémagglutinine (PHA) pour tester l'état de réactivité d'un individu, d'autre part à étudier le comportement des lymphocytes d'un sujet sensibilisé en présence d'un antigène connu.

C'est ainsi qu'en I963, SCHREK en Amérique, PEARMAIN en Angleterre, constatèrent qu'une certaine proportion des lymphocytes de sujet sensibilisé à la tuberculine se transforment en lymphoblastes s'ils sont cultivés en présence de cet antigène.

Le pourcentage de transformation en présence d'antigène spécifique est bien moindre (5 à 20 %) qu'en présence de P.H.A., mais significatif par rapport à une culture témoin (0 à I % de transformation).

2.2.2.2. Applications

Depuis, les travaux ont progressé dans 2 directions :

1) - L'étude du potentiel de réactivité immunologique d'un sujet

On utilise soit des substances activatrices non spécifiques :

- phytohémagglutinine (P.H.A.)
- phytolacea americana (P.W.M.)
- concanavaline (con A)
- streptolysine S
- filtrat staphylococcique

soit des antigènes :

- tuberculine chez les sujets à réaction cutanée positive
- hémocyanine, après sensibilisation préalable du sujet

On a montré que le pourcentage de transformation lymphoblastique est abaissé dans de nombreux états de dépression immunitaires :

- Maladie de Hodgkin (Helleman 1966)
- leucémie lymphoide chronique (Schrek 1961)
- maladie de Besnier Boeck Schaumann (Buckley)
- grandes cachexies cancéreuses
- grand âge
- insuffisance rénale chronique

Dans tous ces exemples, l'abaissement du pourcentage de transformation lymphoblastique est parallèle à la diminution de la réactivité cutanée de type retardé.

Le T.T.L. à la P.H.A. permet aussi de suivre et d'interpréter l'effet des médications dites immuno suppressives dans les affections où l'on soupçonne une participation auto-immunitaire (BONTOUX et Madame KAHAN ont étudié de la sorte en 1971 l'effet et le mode d'action du chlorambucil dans la polyarthrite rhumatoide et montré que l'effet clinique du médicament est parallèle à son action dépressive sur la réactivité des lymphocytes à la P.H.A.).

Les agents dits immuno-suppresseurs : Chlorambucil
Cyclophosphamide
Azathioprine
Méthotrexate
Puri éthol,

n'ont un effet inhibiteur sur le T.T.L. à la P.H.A. que s'ils sont administrés in vivo. Encore leur action n'est-elle pas immédiate.

Au contraire, l'adjonction d'actinomycine D dans le milieu de culture suffit à négativer le T.T.L.

Quant au sérum anti-lymphocytaire, administré in vivo, il déprime la réponse. In vitro au contraire, il déclenche la stimulation lymphoblastique, très probablement par un phénomène de membrane identique à l'action de la P.H.A.

2) - La recherche et l'emploi d'antigènes spécifiques, qui ont permis

a) d'étudier l'immunité retardée anti infectieuse et anti parasitaire dans la tuberculose, les streptococcies, les oreillons, la rougeole, la vaccine,les candidoses, etc... Dans le syndrome de Fiessinger Leroy Reiter, le T.T.L. en présence des germes responsables de l'ornithose et de la psittacose est utilisé comme test diagnostique, du fait d'une antigénicité croisée entre ces Myagawanelles et les Beldsonia (AMOR et Madame KAHAN).

b) de tenter de découvrir un antigène dans certaines maladies immunitaires avec hypersensibilité retardée :

x néphropathies de l'adulte : protéine M streptococcique (LAGRUE I968)

x allergies médicamenteuses de type retardé : pénicilline, sulfamides (HALPERN)

c) d'étudier de la même façon les processus d'hypersensibilité humorale où selon HALPERN et KOCHMAN, seule l'allergie de type réaginique positive le test, et ceci dans une proportion très élevée de cas, supérieure à 90 %.

Ainsi Lycette a étudié les pollinoses (I963)

Halpern a testé :

- l'allergie aux pénicillines, à l'aspirine, aux sulfamides aux produits iodés.
- des allergies alimentaires

Ce test in vitro a le désavantage d'être quelquefois négatif bien que l'état d'hypersensibilité soit évident. Cependant, il est très utile quand une réaction cutanée s'avère dangereuse par les réaction syndromiques qu'elle peut déclencher

d) de tester l'histo compatibilité dans les greffes, les lymphocytes homologues donnant en effet en culture mixte des pourcentages d'autant plus élevés de transformation que l'histocompatibilité est mauvaise.

e) enfin, d'étudier les affections soupçonnées être autoimmunes ; en particulier de recherches d'éventuels autoantigènes :

- A D N dans le lupus (PATRUCO ; DELBARRE et Madame KAHAN ; REINERT)
- suc gastrique, facteur intrinsèque, muqueuse gastrique dans la maladie de Biermer (GUIGAN)
- salive dans la maladie de Behcet : (où le T.T.L. revêt souvent une valeur diagnostique (BISSON, AMOR, Madame KAHAN)
- antigènes thyroidiens dans la thyroidite de HASHIMOTO (REINERT)

Plusieurs auteurs ont étudié le T.T.L. dans la polyarthrite rhumatoïde en utilisant divers antigènes

- liquide synovial (MOENS)
- extrait synovial (ROTHENBERGER)
- A.D.N. (CROUZET)

A notre connaissance, les résultats ont toujours été négatifs.

2.2.2.3. Mécanisme et interprétation

a) - Origine des cellules transformées

Seuls les petits lymphocytes thymo dépendants sont stimulés.
Ainsi la transformation lymphoblastique est elle très déprimée dans le syndrome de DIGEORGE et chez les animaux thymectomisés à la naissance tandis que la bursectomie chez le poussin n'a aucun effet.
Si, chez les animaux thymectomisés on injecte deslymphocytes marqués, on s'aperçoit que ce sont les seules cellules à se transformer.

b) - Le mécanisme de la transformation lymphoblastique diffère quelque peu selon qu'elle résulte de l'action d'un mitogène non spécifique ou d'un activateur spécifique.

-1- La P.H.A. (et les mitogènes non spécifiques)

La P.H.A. n'agit pas en tant qu'antigène :

. Elle recrute en effet la presque totalité (80 à 90 %) des petits lymphocytes du sang périphérique de l'individu normal.

. Le pourcentage de cellules transformées est statistiquement le même si l'on prend :

- des lymphocytes jamais sensibilisés (embryon, nouveau né)
- des lymphocytes de sujet sensibilisé
- des lymphocytes d'animal rendu tolérant

. L'action de la P.H.A. est maximale en 72 heures, à la différence de l'action des antigènes.

La P.H.A. n'agit pas non plus en inhibant un facteur plasmatique qui réprimerait la transformation lymphoblastique. En effet, en

milieu totalement artificiel et sans P.H.A.on n'obtient pas de transformation blastique ; au contraire, des cellules mises en contact avec la P.H.A. et remises en suspension dans le sérum se transforment.

Il s'agit donc d'une action non immunologique. On chercha d'abord à la caractériser au niveau du noyau, étant donné l'action mitogène de la P.H.A. POGO découvrit que la P.H.A. produit, très précocément après la stimulation, une acétylation des histones du noyau des lymphocytes, qui s'accompagne d'une replication de l'A.D.N.

En fait, cette acétylate est un processus assez général, produit par de nombreux agents pharmaco-dynamiques, même non stimulants.

N'ayant pu caractériser dans le noyau une action pharmacologique précoce qui représentât le primum movens de la stimulation, on la chercha au niveau de la membrane du lymphocyte. Ce point d'impact paraissait d'autant plus plausible qu'il est impossible de dissocier l'action leuco-stimulante de l'action leuco-agglutinante de la P.H.A. (alors que le traitment des lymphocytes par le filtrat staphylococcique ou par des extraits de vibrion cholérique dissocie l'action leuco-stimulante de l'action hémagglutinante (LING).*

D'ailleurs MICHALOWSKI devait retrouver par immunofluorescence indirecte la P.H.A. localisée précocement au niveau de la membrane cytoplasmique. Les modifications de cette membrane sont les premières à se manifester, quelques minutes après le contact avec la P.H.A. Celle-ci induit une augmentation du turn-over du phosphatidyl inositol, qui ne nécessite qu'un temps de contact très bref pour débuter. Cet emballement constituerait l'amorce de l'entrée en mitose.

* Toutefois, les travaux de LINDAHL-KIESSLING semblent établir la possibilité de dissocier les effets agglutinant et stimulant (voir page 45).

Les sites de fixation de la P.H.A. au niveau de la membrane semblent réagir avec la P.H.A. selon un mode chimique simple (MOLLER)*

En résume, la P.H.A. agit en se fixant sur la membrane cytoplasmique des lymphocytes par une réaction chimique. Elle induit une modification de cette membrane qui provoque la transformation blastique. Cet effet mitogène est très rapide : il débute après une demi heure et est alors irréversible, même si l'on retire la P.H.A. du milieu.

On note alors une activation de l'A.M.P. cyclique, une décharge des enzymes lysosomiaux, une modification des protéines du noyau, et une modification de la structure de l'A.R.N. présent dans le cytoplasme. Puis, après la sixième heure, on observe au contraire l'apparition de nouveaux lysosomes, une acétylation des histones, une phosphorylation des nucléoprotéines et la synthèse juxtanucléaire de nouvelles molécules d'A.R.N Enfin, vers la douzième heure, la synthèse d'A.D.N. commence.

Cette action de la P.H.A. ne nécessite pas la présence de macrophages.

-2- L'action des activateurs spécifiques :

- agissant sur les lymphocytes déjà sensibilisés, ils entraînent toujours un taux de transformation beaucoup plus faible.

- la transformation blastique induite par les antigènes spécifiques est beaucoup plus lente qu'en présence de P.H.A., puisqu'elle demande 5 à 6 jours.

- la présence de macrophages exerce un effet adjuvant en augmentant le pourcentage de transformation par les antigènes spécifiques, comme le montrent les travaux d'EVAN (1968) avec des suspensions pures

* LINDAHL-KIESSLING, dans une communication personnelle rapportée par M.F. GREAVES (Cell interactions, Third Lepetit Colloquium, North Holland 1972 - Amsterdam-Londres p. 144) insiste sur la nécessité pour la PHA d'être au moins dimérisée pour induire la transformation lymphoblastique ; le monomère obtenu par dissociation acide ne gardant que le pouvoir leuco-agglutinant.

de lymphocytes, et l'adjonction secondaire de macrophages. Ceci constitue une différence fondamentale avec l'action de la P.H.A.

- le contact direct entre macrophages et lymphocytes sensibilisés est indispensable ; la transformation est impossible si une membrane saine perméable impêche ce contact, même si elle permet la diffusion d'éventuels produits de sécrétion cellulaire.

Le mécanisme cellulaire intime de la stimulation des lymphocytes par les antigènes spécifiques est encore à l'étude, mais l'hypothèse généralement admise est l'existence à la surface du lymphocyte sensibilisé, d'un site membranaire récepteur de l'antigène,site dont la réaction avec l'antigène véhiculé et "transformé" par le macrophage induit les phénomènes déjà décrits pour la P.H.A.

Quels sont ces activateurs spécifiques ?

Il peut s'agir :

- 1-d'antigènes inducteurs d'une hypersensibilité retardée
  - * antigènes exogènes quels qu'ils soient, induisant la transformation blastique à la condition d'un contact sensibilisant antérieur.
  - * auto-antigènes
- 2-d'antigènes d'histocompatibilité qui sont des antigènes forts ne nécessitant pas de sensibilisation préalable (cultures mixtes qui sont le test in vitro d'une immunité de greffe)
- 3- d'antigènes inducteurs d'une hypersensibilité humorale (HALPERN et KY)

On a rapporté que, dans les phénomènes d'hypersensibilité à anticorps circulants, la transformation blastique des lymphocytes par action de la P.H.A. coïnciderait avec la sécrétion des anticorps spécifiques.

facteur rhumatoïde dans la polyarthrite rhumatoïde, anti-corps anti-thyroidiens dans la thyroidite de HASHIMOTO, paraprotéine dans les maladies de KAHLER et de WALDENSTROM`. Dans les hypogammaglobulinémies, par contre, la stimulation des lymphocytes par la P.H.A. n'entraine pas de sécrétion gamma-globulines (quant à la transformation blastique, elle est discutée : faible par ELVES, elle est normale pour HIRSCHHORN)

Ce rôle fut confirmé par les travaux à HALPERN et KY, et de BROSTOFF qui ont observé des taux de transformation significatifs dans une proportion très élevée de cas au cours d'allergies médicamenteuses de type humoral, lorsque les lymphocytes sensibilisés sont mis en présence de l'antigène. Selon HALPERN et KOCHMAN , répétons-le, seule l'allergie de type réaginique IgE positive le test .

Il faut cependant signaler que les résultats d'HALPERN et KY sont controversés par de nombreux auteurs qui n'ont pas retrouvé ces faits ou ont estimé les chiffres trop faibles pour être significatifs.

- 4- Certains auteurs (BLOCH-STACHER et UHR) ont aussi démontré que les complexes antigène-anticorps sont capables d'induire la transformation de lymphocytes même non sensibilisés.

- 5- Enfin, pour BENEZRA et DAVIES, la présence d'anticorps conventionnels pourrait également entraîner une transformation blastique du lymphocyte. (confirmé par GELL et SELL).

2.2.2.4. Critique du T.T.L.

Deux critiques essentielles peuvent être formulées à l'encontre du T.T.L.

1) La réalisation technique est relativement délicate, nécessitant un laboratoire spécialisé.
La durée de la culture avant la lecture des résultats potentialise tous les facteurs de mortalité des lymphocytes.

2) Enfin, la négativité du T.T.L. n'élimine pas la possibilité d'une allergie vis à vis de l'antigène spécifique, de nombreux auteurs ayant rapporté des cas de négativité coïncidant avec un syndrome clinique évocateur et des réactions cutanées fortement positives.

La prudence s'impose dans l'interprétation des positivités. Il faut toujours faire des témoins sans antigène pour vérifier le taux de transformation spontanée, et ne considérer le test comme positif que lorsque le taux de transformation en présence de l'antigène est au moins égal au double du taux des témoins.

2.2.3. LE TEST DE MIGRATION LEUCOCYTAIRE (T.M.L.)

Le test de migration leucocytaire, tel qu'il a été décrit par SOBORG et BENDIXEN, dérive des techniques d'inhibition de la migration des macrophages.

2.2.3.1. HISTORIQUE

L'histoire des méthodes d'inhibition de la migration comprend trois étapes :

1°) En 1932 RICH et LEWIS font des explants de rate et de leucocytes périphériques de cobayes sensibilisés à la tuberculine.

Ils notent que l'addition de tuberculine purifiée (PPD) au milieu de culture inhibe la migration des cellules.

Ainsi est mise en évidence une réaction d'hypersensibilité retardée in vitro.

2°) Ce n'est que trente ans plus tard que GEORGE et VAUGHAN mettent au point la technique de migration en tubes capillaires : ils démontrent que les cellules d'un exsudat péritonéal obtenu chez un cobaye sensibilisé à la tuberculine purifiée (PPD) ont une migration nettement inférieure que celles des cellules d'un animal non sensibilisé après l'addition de l'antigène spécifique.

Ils utilisent une technique en un temps : les cellules péritonéales (macrophages et lymphocytes) provenant d'un animal sensibilisé sont mises en tubes capillaires et on mesure la surface de migration après 24 heures de culture, l'index de migration étant le rapport entre la surface de migration en présence de l'antigène et la surface de migration en l'absence d'antigène. On considère que la migration est inhibée lorsque l'index est inférieur à 0,75.

Les résultats ainsi exprimés montrent un effet global, mais ne permettent pas de déterminer le rôle de chaque type cellulaire impliqué dans la réaction.

Or, l'exsudat péritonéal de cobaye contient en proportions variables suivant les techniques d'obtention, 50 à 80 % de macrophages, 10 à 25 % de lymphocytes, et quelques polynucléaires.

En 1966, BLOOM et BENNETT démontrent le rôle respectif des lymphocytes et des macrophages. Ils utilisent des cellules péritonéales des cobayes sensibilisés aux mycobactéries, qu'ils réussissent à séparer en faisant adhérer les macrophages au verre. Ils observent que les lymphocytes seuls ne migrent pas ; par contre les macrophages migrent en présence ou en l'absence d'antigène, qu'ils proviennent ou non d'animaux sensibilisés. Le mélange, dans un tube capillaire, des macrophages -sensibilisés ou non- et des lymphocytes sensibilisés, en présence d'un milieu nutritif contenant l'antigène, inhibe la migration des macrophages, 2 à 2,5 % de lymphocytes sensibilisés sont suffisants pour inhiber la migration des macrophages.

On obtient une inhibition de la migration des macrophages normaux même sous l'action d'un surnageant de culture de lymphocytes sensibilisés en présence de l'antigène spécifique, ce qui prouve que le médiateur est une substance soluble. Il ne s'agit pas d'une action toxique, la viabilité des macrophages n'étant pas altérée.

Par contre, l'inhibition ne peut être obtenue :

- ni par le surnageant d'une culture de lymphocytes normaux en présence d'antigène, ou d'une culture de lymphocytes sensibilisés sans l'antigène correspondant,
- ni par l'addition de l'antigène au surnageant après l'élimination des lymphocytes.

Enfin, les lymphocytes des sujets n'ayant qu'une hypersensibilité immédiate n'ont aucune action sur la migration des macrophages.

Ainsi est prouvée l'action immunologique spécifique des lymphocytes dans cette réaction, les macrophages n'étant que les cellules cibles ; d'ailleurs la migration des macrophages non sensibilisés est inhibée de la même manière que celle des macrophages sensibilisés.

De cette expérience dérive la technique à deux temps :

1) culture des lymphocytes de l'animal sensibilisé en présence de l'antigène spécifique pendant 24 heures.

2) action du surnageant acellulaire sur la migration des macrophages.

Cette technique a permis en 1969 à RAUCH et FERRARESI d'étudier parallèlement les réactions d'hypersensibilité in vivo et l'inhibition de la migration des macrophages dans une maladie autoimmune expérimentale : l'encéphalo-myélite allergique.

D'abord étudié chez le cobaye, ce test s'avère applicable à plusieurs espèces animales (rats, souris, hamsters, singes). Bien plus, on peut faire réagir des lymphocytes d'une espèce avec des macrophages hétérologues, ce qui souligne l'absence de spécificité d'espèce de l'inhibition de la migration (homme-cobaye).

3°) Vient alors la phase d'application du test à l'homme.
Les recherches techniques se développent dans trois directions :

a) On applique d'abord à l'homme la technique en deux temps, faisant agir sur des macrophages péritonéaux de cobaye, le surnageant de cultures de lymphocytes en présence de l'adjuvant sensibilisé.

C'est ainsi que THOR et DRAY (1968) montrent que les lymphocytes humains sensibilisés produisent lorsqu'ils sont cultivés en présence de l'antigène spécifique (PPD, histoplasmine ou coccodioïdine), un facteur inhibant la migration des macrophages obtenus chez le cobaye, par création d'une péritonite à l'huile minérale ; il existe une excellente corrélation avec les réactions cutanées à l'antigène correspondant. Ils en déduisent que le MIF humain et le MIF du cobaye sont probablement identiques.
Cette technique rallie la majorité des auteurs les plus divers, depuis ROCKLIN jusqu'à SKOPINSKA.

ROCKLIN en particulier confirme la bonne corrélation des résultats avec ceux des réactions cutanées en ce qui concerne :

- P.P.D. - candidine et streptokinase.

b) Cependant, BARTFELD et ATOYNATAN émettent un avis contraire, et soutiennent que le M.I.F. d'une espèce donnée n'est actif que sur les macrophages de la même espèce : c'est ainsi que le M.I.F. humain est inactif sur les macrophages de cobaye ou de singe. Il faut cependant tenir compte du fait que ces auteurs emploient des macrophages alvéolaires pulmonaires obtenus par lavage des poumons des animaux, ou de pièces opératoires humaines. Il est probable que des particularités métaboliques expliquent cette différence entre macrophages péritonéaux (dont l'inhibition n'est pas spécifique d'espèce) et macrophages pulmonaires (dont l'inhibition est spécifique d'espèce). M.I.F. humain et M.I.F. de cobaye ont en tous cas les mêmes propriétés physico-chimiques.

BARTFELD et ATOYNATAN confirment la bonne corrélation de ce test en deux temps, utilisant les macrophages alvéolaires homologues, avec les réactions cutanées en ce qui concerne la tuberculine. Ils pensent que cette technique est plus facilement applicable à l'homme que l'utilisation des macrophages péritonéaux.

Il faut noter que cette technique n'a pas été reprise par d'autres auteurs, peut-être en raison de la difficulté d'obtention des pièces opératoires.

c) Mais, devant la difficulté de réalisation de la technique en deux temps avec macrophages homologues alvéolaires, les auteurs cherchent à mettre au point une technique plus simple :

- 1 - THOR, en 1968 essaye de faire migrer des cellules ganglionnaires. Les cellules fraîches ne migrant pas, il obtient une migration après une culture préalable en suspension de 72 heures.

Or, cette migration est parfaitement inhibée par la présence de l'antigène spécifique lorsqu'il s'agit de lymphocytes sensibilisés. Cette inhibition est en étroite corrélation avec les réactions cutanées, qu'il s'agisse de P.P.D. ou d'histoplasmine.

La composition du mélange initial est la suivante :

- macrophages : 2 à 10 %
- lymphocytes moyens et grands : 25 à 50 %
- le reste étant composé de petits lymphocytes.

Ce sont les moyens et les grands lymphocytes qui dans la migration jouent le rôle de cellules mobiles.

La critique principale de cette technique est qu'elle nécessite un prélèvement ganglionnaire qui n'est pas toujours facile.

- 2 - En 1967, SOBORG et BENDIXEN mettent au point leur technique un un temps, que nous allons décrire en détail, et qui repose sur l'inhibition de la migration des <u>leucocytes</u> du sang périphérique par l'antigène auquel le sujet est sensibilisé.

- 30 ml de sang veineux sont recueillis sur héparine sans préservant et mis à sédimenter à 37° C. Au bout d'une heure, le surnageant riche en leucocytes est prélevé, centrifugé 5 minutes à 1 000 tours/minute et lavé 3 fois dans le milieu de HANKS. Le culot est remis en suspension dans du milieu PARKER (199) enrichi de sérum de poulain (concentration cellulaire finale : 50.10^6 cellules/ml).

La suspension est alors placée dans des tubes capillaires dont on scelle une extrémité à la flamme, et qu'on centrifuge.

Après avoir sectionné à l'interphase culot-surnageant, on place les tubes dans des chambres de migration qui contiennent du milieu PARKER enrichi de 20 % de sérum de poulain, une chambre contenant du milieu pur, les autres du milieu avec l'antigène à étudier à une gamme de dilutions croissantes. Les chambres de migration sont placées 24 heures à l'étuve à 37° après avoir été recouvertes d'une lamelle : tout le matériel est stérile, toutes les manipulations sont faites stérilement.

Les résultats sont lus après 24 heures par projection sur l'écran d'un microscope : la surface de la migration est mesurée. On détermine l'index de migration par le rapport de la surface de migration avec antigène sur la surface de migration sans antigène.

Les auteurs étudient avec cette technique l'immunité antibrucellienne, et obtiennent des résultats significatifs, notant une corrélation étroite entre T.M.L. et réaction cutanée, alors qu'il n'en existe pas entre T.M.L. et taux d'anticorps circulants.

Ils testent ensuite avec succès, les thyroïdites de HASHIMOTO (SOBORG et HALBERG), l'histoplasmose, la coccidiose, le syndrome de Sjögren avec un extrait de glande salivaire (SOBORG et BERTRAM), la glomérulonéphrite avec un extrait de rein et un extrait de foie.

BROSTOFF et ROITT confirment la valeur de cette technique en étudiant l'hypersensibilité retardée dans le rhume des foins.

La technique de SOBORG est alors reprise en France par MOULIAS, GOUST et MULLER-BERAT, qui la modifient légèrement, puis par la plupart des équipes d'immunologistes.
C'est cette technique que nous avons utilisée dans notre étude sur l'hypersensibilité de la polyarthrite rhumatoïde.

d) Cependant plusieurs auteurs (KALTREIDER, CLAUDY, THIVOLET, BROGAN) utilisant des leucocytes périphériques humains ne peuvent obtenir

une corrélation entre le test de migration en présence de P.P.D. et les tests cutanés à la tuberculine.

LOCKSHIN rejoint le rang des détracteurs du T.M.L. (technique SOBORG) et reste fidèle au test en deux temps.

Devant toutes les critiques qui s'élèvent à l'encontre de ce test, de nombreux auteurs restent eux aussi fidèles au test en deux temps, utilisant soit les macrophages péritonéaux de cobaye (technique de ROCKLIN) soit des macrophages pulmonaires humains (BARTFELD).

2.2.3.2. INTERPRETATION DU T.M.L.

Nous verrons successivement :

1 - l'interprétation de l'inhibition de la migration des macrophages et l'étude du M.I.F. (système macrophage).

2 - l'interprétation du T.M.L. (système buffy coat).

2.2.3.2.1. INTERPRETATION DE L'INHIBITION DE LA MIGRATION DES MACROPHAGES

a) L'inhibition de la migration des macrophages est en corrélation étroite avec l'hypersensibilité retardée.

- elle ne se manifeste que chez des sujets ayant des réactions cutanées retardées positives vis-à-vis de l'immunogène considéré.

- elle est totalement indépendante de la présence d'anticorps circulants (BLOOM et BENNETT ; DAVID et AL ASKARI).

- chez le cobaye, il existe une corrélation étroite entre l'inhibition de la migration des macrophages et la réaction cutanée, en ce qui concerne le moment de leur apparition (RICCI et FERRARESI) et leur intensité (MARCUS)

b) l'absence de corrélation avec les anticorps circulants

démontrée par GEORGE et VAUGHAN a été confirmée par les travaux de BLOOM et JIMENEZ ; et de FERRARESI qui a montré l'absence de corrélation entre l'inhibition de la migration des macrophages et le phénomène d'ARTHUS.

Au début de l'état d'hypersensibilité, les tests cutanés sont plus précoces et plus sensibles, d'autant plus que l'antigène est plus puissant.

Entre la 6e et la 15e semaines la même concentration d'antigène donne des résultats identiques avec les deux tests.

Après la 15e semaine, s'il n'y a pas de nouvelle stimulation antigénique, les réponses aux deux tests s'atténuent, en particulier, il apparaît un effet dose pour l'inhibition de la migration des macrophages.

Dans les deux systèmes, la hiérarchie des antigènes est la même : la toxine diphtérique est plus puissante que la tuberculine, elle-même plus puissante que les gamma-globulines humaines.

-on peut donc obtenir une inhibition de la migration des macrophages chez les sujets agamma-globulinémiques (ROCKLIN, ROSEN et DAVID) dans la maladie de BRUTON en particulier.

-donc l'inhibition de la migration des macrophages nécessite :

1) . un sujet apte à répondre par une réaction d'hypersensibilité retardée ; c'est ainsi que l'inhibition de la migration ne peut être obtenue :

. dans le syndrome de DI GEORGE (ROCKLIN)

. chez les animaux thymectomisés à la naissance (sauf si on leur greffe un nouveau thymus).

. chez les animaux rendus tolérants (BOREL et DAVID).

2) . Un contact préalable sensibilisant : elle est constamment négative chez un sujet non sensibilisé à l'antigène en cause (ROCKLIN) ; c'est pourquoi une culture mixte de lymphocytes ne produit pas d'inhibition de la migration (alors qu'elle donne lieu à une transformation blastique), sauf si un des sujets a été au préalable greffé avec un tissu de l'autre.

3) . la présence de l'immunogène spécifique.

4) . des lymphocytes sensibilisés vivants (BLOOM, HAMILTON et CHASE) et capables de synthétiser des protéines (l'adjonction de puromycine au milieu empêchant toute inhibition de migration).

c) <u>l'inhibition de la migration des macrophages est hautement spécifique de l'antigène</u>.

En utilisant des antigènes bactériens, protéiques et des haptènes, CARPENTIER d'une part, DAVID d'autre part ont montré que :

- la réponse inhibitrice est hautement spécifique : ainsi, un animal sensibilisé avec l'ovalbumine ne réagit pas avec la gamma-globuline bovine.

- lorsque l'immunogène est un haptène, la spécificité intéresse la protéine porteuse (à la différence de l'hypersensibilité à anticorps circulants, spécifique de l'haptène), ce qui rejoint les constatations de BENACERRAF et GELL.

SCHLOSSMANN et DAVID, utilisant l'haptène DNP, ont précisé que la plus petite protéine liée à l'haptène nécessaire pour obtenir une inhibition est un oligopeptide contenant au moins 7 résidus lysine, condition requise par ailleurs pour l'obtention d'une hypersensibilité in vivo (alors que l'obtention d'anticorps circulants, dans le cas de l'haptène DNP, est possible avec une protéine porteuse ne contenant que trois résidus lysine).

Ainsi, l'on note déjà certaines différences entre l'inhibition de la migration des macrophages et la transformation lymphoblastique :

1 - si l'inhibition de la migration (sécrétion de M.I.F.) peut être mise en évidence après 24 heures de culture, la transformation blastique par des antigènes ne se produit qu'au 4e, 5e jour.

2 - la transformation blastique n'est pas caractéristique de la seule hypersensibilité retardée. En effet, elle peut être mise en évidence dans certaines formes d'hypersensibilité immédiate (allergie médicamenteuse par exemple : HALPERN) ainsi que sous l'action de complexes antigène-anticorps.

3 - La culture mixte de lymphocytes produit une transformation blastique mais n'induit pas la formation de M.I.F.

d) <u>deux populations cellulaires sont nécessaires à l'inhibition de la migration des macrophages</u>

DAVID a démontré en 1964, comme nous l'avons déjà dit, le rôle respectif des lymphocytes sensibilisés, <u>cellules inductrices</u> en présence d'antigène, et des macrophages, <u>cellules effectrices</u>, <u>révélatrices de la réaction</u>. L'adjonction de 2,5 % de lymphocytes sensibilisés à une culture de macrophages en présence d'antigène est nécessaire et suffisante pour inhiber la migration. Il est indispensable que les cellules sensibilisées soient vivantes. Inversement (DAVID 1966), en l'absence de macrophages, il

est impossible d'objectiver une inhibition quelconque de migration des lymphocytes en présence d'antigène.

Ces travaux furent confirmés par ceux de BENNETT et BLOOM qui, séparant macrophages et lymphocytes cette fois en gradient de densité par le polysucrose, démontrèrent qu'un lymphocyte sensibilisé peut induire l'agrégation de 10 à 30 macrophages.

Rappelons qu'il n'est pas nécessaire que les macrophages soient sensibilisés, ni que, pour la majorité des auteurs du moins, ils soient autologues ni même homologues.

Les travaux de ROCKLIN, déjà cités, démontrent que ce sont les lymphocytes thymo dépendants qui sont responsables de l'inhibition de la migration des macrophages (expériences sur les animaux en aplasie thymique congénitale et après greffes de thymus).

e) l'inhibition de la migration des macrophages est due à un facteur soluble libéré par les lymphocytes sensibilisés en présence de l'antigène.

BLOOM et BENNETT d'une part, DAVID d'autre part, montrent que l'inhibition de la migration des macrophages est obtenue grâce au seul surnageant du mélange : lymphocytes sensibilisés -antigène après incubation en milieu nutritif pendant 24 heures.

Il s'agit donc d'une substance soluble qui n'est produite :

- ni par le contact d'un antigène avec des lymphocytes non sensibilisés (ou sensibilisés à un autre antigène).

- ni par la culture de lymphocytes seuls même sensibilisés, même si on ajoute l'antigène au surnageant après élimination des lymphocytes.

- ni par des cellules productrices d'anticorps circulants (c'est-à-dire prélevées chez des animaux dont l'immunisation n'a produit qu'une hypersensibilité humorale).

BLOOM et BENNET l'appellent "Migration Inhibitory Factor" (M.I.F.)

Il s'agit d'une substance sécrétée activement par le lymphocyte et non pas d'un facteur sérique fixé sur ces cellules ; c'est ainsi que ROCKLIN (1970) montre que des lymphocytes de sujets à cuti-réaction tuberculinique négative, incubés avec du sérum de sujets à cuti-réaction positive n'acquièrent pas le pouvoir d'inhiber, en présence de tuberculine, la migration des macrophages.

D'autres preuves de cette sécrétion active sont apportées :

- l'inhibition de la migration des macrophages nécessite, nous l'avons dit, des cellules viables.

- l'adjonction de puromycine au milieu (2.10^{-5}M) ou de mitomycine C, qui bloquent les synthèses protidiques, empêchent l'inhibition de la migration des macrophages (DAVID, BLOOM et BENNETT).

- l'intégrité de la membrane du lymphocyte est indispensable : les lymphocytes traités par la trypsine ne produisent pas de M.I.F. ; cependant, ils recouvrent cette possibilité 24 heures après élimination de la trypsine, ce qui laisse penser que le lymphocyte sensibilisé est porteur de sites récepteurs protéiques de surface, qu'il peut rapidement resynthétiser.

BLOOM a montré qu'un premier temps indispensable est celui de la fixation de l'antigène sur la membrane du lymphocyte sensibilisé qui a lieu pendant la première heure du contact. Dès lors, les conditions pour la sécrétion de M.I.F. sont réalisées, même si l'on soustrait l'antigène en excès du milieu. Cependant, pour que le M.I.F. produit puisse inhiber de façon significative la migration des macrophages, il faut rajouter un excès d'antigène. Nous y reviendrons.

En conclusion, on peut dire que l'inhibition de la migration des macrophages est due à la sécrétion active par les lymphocytes sensibilisés, en présence de l'antigène d'une substance protéique, le M.I.F. qui inhibe la migration des macrophages sans les tuer.

Avant d'entrer plus dans le détail de l'étude du M.I.F., nous allons passer en revue les données microscopiques.

f) données microscopiques

1 - l'étude au microscope optique (GOTOFF, SALVIN et NISHIO) dans la technique d'inhibition de la migration des macrophages péritonéaux montre que l'exsudat péritonéal contient une majorité de macrophages (50 à 80 %), des lymphocytes (10 à 25 %) et quelques polynucléaires.

. En l'absence d'antigène, la migration se fait de façon indépendante à partir du tube capillaire, cellule par cellule ; tout au plus peut-on noter quelques petits agrégats cellulaires. Les macrophages sont les premières cellules à migrer. Les cellules demeurent vivantes dans le milieu nutritif. Les macrophages présentent de nombreux pseudopodes après 24-48 heures, et un petit nombre de petits granules cytoplasmiques près de la capsule. Il y a peu de lymphocytes à la périphérie.

. En présence d'antigène au contraire, on remarque de volumineux agrégats cellulaires faits de 50 à 300 cellules comprenant une majorité de macrophages autour de quelques lymphocytes. Les macrophages sont arrondis ou ovales, leur capsule paraissant rétractée. Il y a peu de pseudopodes. Les cellules semblent quiescentes ; elles contiennent de grosses vacuoles. Les noyaux sont irréguliers. On note des granules cytoplasmiques en nombre et en volume plus importants, de teinte jaunâtre. Les macrophages sont cependant vivants comme le prouve le test d'exclusion au bleu trypan.

L'addition d'antigène aux lymphocytes sensibilisés modifie leur comportement : ils semblent s'agréguer aux macrophages et entraver leurs mouvements.

On ne peut dire, par l'étude au microscope optique s'il y a ou non échanges entre les lymphocytes et les macrophages.

L'aspect est le même si au lieu d'ajouter l'antigène à l'exsudat péritonéal de cobaye sensibilisé, on ajoute à une culture de macrophages non sensibilisés le mélange : surnageant de lymphocytes sensibilisés cultivé en présence d'antigène. La seule différence étant alors, bien entendu, l'absence de lymphocytes.

2 - En microscopie électronique (SMITH et WEISS), on note que l'immobilisation et l'agglutination des macrophages correspond à une augmentation importante du nombre de microvillosités de leur membrane en présence de l'antigène et à l'entrelacement des microvillosités des cellules voisines suggérant des phénomènes de phagocytose intercellulaire, tandis que la forme générale de la cellule macrophagique s'arrondit (au contraire, en l'absence d'antigène, le macrophage a une forme irrégulière et étalée).

Les lymphocytes sensibilisés sont très semblables aux lymphocytes n'ayant pas rencontré l'antigène.

Ainsi, le test d'inhibition de la migration des macrophages, tel qu'il est réalisé dans la technique en deux temps de ROCKLIN, repose sur l'agrégat des macrophages entre eux par le M.I.F., facteur soluble sécrété par le lymphocyte sensibilisé quand il est en présence de l'antigène :

- l'antigène spécifique se fixe à la surface des cellules sensibilisées sur les sites récepteurs spécifiques (expériences aves la trypsine).

- cette interaction site récepteur-antigène induit une synthèse protéique (expérience avec la puromycine) suivie de la libération de ce facteur protéique, soluble, dans le milieu de culture, qui inhibera la migration des macrophages en produisant leur agrégation.

g) étude du M.I.F.

L'étude du surnageant de cultures de lymphocytes sensibilisés en présence d'antigène a permis de reconnaître diverses propriétés à la fraction qui produit l'inhibition de la migration des macrophages.

1 - Propriétés biochimiques (BLOOM et BENNETT ; DAVID et REMOLD)

Le M.I.F. est thermostable à 56° pendant 30 minutes. Il n'est pas dialysable.

Son poids moléculaire, mesuré après filtration sur Sephadex G. 100 et G. 75 est de 25 à 55 000.

Il migre avec les préalbumines à l'électrophorèse sur gel d'acrylamide. Mais l'ultracentrifugation en gradient de Chlorure de Césium montre que cette substance est plus dense que les autres protéines.

Sa nature protéique explique son inhibition par la trypsine ; la R Nase et la D Nase sont sans effet. Il est aussi inhibé par la neuraminidase : il contient donc de l'acide sialique : c'est une glycoprotéine acide.

En fait ces caractères s'appliquent à une activité biologique, et non à un facteur réellement isolé. BLOOM et JIMENEZ se demandent s'il

n'y a pas plusieurs M.I.F. de PM différents, étant donné que l'élution sur colonnes de Séphadex de caractères différents indique des P.M. discordants (25 000, 40 000, etc...)

2 - Propriétés biologiques

1. Il apparaît dans le milieu de culture dès la 6e heure de contact entre les lymphocytes et l'antigène (BENNETT et BLOOM) ; il est donc plus précoce que le phénomène de transformation lymphoblastique qui n'apparaît qu'à la 72e heure.

2. Il est actif à une dose minimale de 40 nanogrammes par millilitre, ce qui en fait une des substances biologiques les plus actives (REMOLD). En particulier, il faut pour inhiber la migration des macrophages, des quantités d'anticorps cytophiles infiniment plus fortes que la quantité des M.I.F. (SPITLER ; HUBER ; HEISE) ce qui démontre que le M.I.F. n'est pas un anticorps conventionnel ou cytophile.

3. Son action sur une culture monocellulaire de macrophages ne se borne pas à l'inhibition de la migration ; on observe (NATHAN) :

- la multiplication par 4 ou 8 de l'oxydation du glucose, cet emballement se faisant par le biais de shunt hexese-monophosphate après 48 heures, et rendant peut-être compte de :

- l'augmentation de la phagocytose des particules d'amidon radio-actif et des bacilles tuberculeux tués

- l'augmentation du pouvoir bactéricide

- l'augmentation de l'activité de membrane.

4. L'action in vivo du M.I.F., encore mal connue, est probablement très proche de ses effets in vitro ; c'est ainsi que l'injection intra péritonéale d'antigène chez un cobaye sensibilisé provoque la disparition des macrophages qui se groupent en amas sur la membrane péritonéale (NELSON et BOYDEN).

5. La spécificité du M.I.F. est un point important encore mal connu :

. La spécificité d'espèce :

- ne ressort pas de l'étude physicochimique (identité du M.I.F. humain et du M.I.F. de cobaye)
- mais de l'impossibilité pour le M.I.F. humain d'inhiber la migration des macrophages pulmonaires de cobaye et de singe (BARTFELD et ATOYNATAN 1970).
- cependant certains auteurs (LOCKSHIN) utilisent une technique en deux temps avec macrophages péritonéaux de cobaye révélateurs de M.I.F. humain.

Tout se passe donc, jusqu'à plus ample informé comme s'il n'existait pas de spécificité d'espèce de M.I.F. vis-à-vis des macrophages péritonéaux, alors que les macrophages alvéolaires sont inhibés uniquement par du M.I.F. homologue.

. La spécificité d'antigène :

- bien que le M.I.F. ne soit pas un anticorps conventionnel, les travaux de AMOS et LACHMAN (nécessité de la présence de l'antigène avec le système révélateur) font penser qu'il existe une spécificité M.I.F.-antigène.

6. Mode d'action du M.I.F.

C'est poser le problème essentiel : le MIF est-il un anticorps ?

- Dès 1964, DAVID avait répondu par la négative, devant l'impossibilité d'obtenir une inhibition de migration avec des sérums, aussi riches soient-ils en anticorps.

- Cependant, il est vrai, d'une part, que le M.I.F. a une spécificité d'antigène, et que la présence de l'antigène est indispensable à son effet inhibiteur (BLOOM et BENNETT, 1968 ; AMOS et LACHMAN, 1970).

D'autre part, le macrophage est porteur de sites récepteurs pour les anticorps cytophiles (HUBER et FUDENBERG, LO BUGLIO), et plusieurs auteurs ont montré que les complexes immuns peuvent inhiber la migration des macrophages :

- BLOOM et BENNETT en plaçant les macrophages en présence d'un antigène et de l'immun sérum correspondant.

- BERKEN et BENACERRAF en 1966,

- HEISE, HAN et WEISER (1968) en mettant les macrophages (normaux ou sensibilisés) en présence d'un éluat de macrophages sensibilisés à la tuberculine et de tuberculine ; ils prouvent par action de la trypsine que cet éluat contient des anticorps cytophiles détachés des macrophages.

- SPITLER, HUBER et FUDENBERG (1969) confirment qu'il est possible d'inhiber la migration des macrophages au moyen de complexes immuns, à condition que les anticorps soient des IgG, les IgM n'ayant pas d'action inhibitrice.

- Cependant, le M.I.F. n'est pas une immunoglobuline conventionnelle, parce que :

a/ la quantité d'anticorps nécessaire pour inhiber la migration est beaucoup plus grande que la quantité de substance libérée in vitro.

b/ la fraction obtenue après précipitation avec $SO_4 (NH_4)_2$ à 33 % de saturation, contenant toutes les globulines, n'a pas d'effet inhibiteur sur la migration.

c/ après filtration sur Sephadex, le M.I.F. passe avec les albumines (BLOOM et BENNETT ; AMOS) et non pas avec la fraction gamma-2 globulines du cobaye.

En conclusion, le M.I.F. est une substance dont l'induction est spécifique, liée à l'antigène, et dont le mode d'action sur les cellules cibles est non spécifique.

2.2.3.2.2. INTERPRETATION DU T.M.L. (système buffy coat)

Après avoir étudié la signification de l'inhibition de la migration des macrophages, il nous faut préciser celle de l'inhibition de la migration des leucocytes périphériques (buffy coat) dans la technique de SOBORG et BENDIXEN que nous avons utilisée. Nous nous baserons essentiellement sur les écrits des auteurs qui ont mis ce test au point, et de ceux qui l'emploient le plus volontiers, nous réservant de grouper les critiques dans un paragraphe ultérieur.

a/ les résultats du T.M.L. sont en corrélation étroite avec l'hypersensibilité retardée. Ceci est démontré par le parallélisme des résultats du T.M.L. et des réactions cutanées à Brucella abortus Bang (SOBORG, 1968) sans que l'on puisse mettre en évidence une corrélation statistique, et du T.M.L. avec les réactions cutanées à la tuberculine (ROSENBERG et DAVID : 1970).

Pour SOBORG, l'inhibition de la migration dépend de 2 facteurs :

1. La concentration d'antigène dans le milieu
2. Le degré d'hypersensibilité du sujet.

Lorsque cette hypersensibilité est forte, on obtient un index de migration inférieur ou égal à 0,76 quelle que soit la concentration d'antigène.

Lorsqu'elle est faible, des concentrations fortes d'antigène inhibent la migration ; au contraire, des concentrations faibles excitent celle-ci, et l'on objective un effet dose (l'excitation de la migration avait déjà été notée par SVEJCAR sur des explants spléniques).

Lorsque les réactions cutanées sont négatives enfin, l'indice de migration est supérieur à 0,76.

b/ il n'y a aucune corrélation entre résultats du T.M.L. et taux d'anticorps circulants (SOBORG 1967)

c/ l'inhibition de la migration des macrophages est spécifique de l'antigène, mais il n'y a pas eu à notre connaissance, de travaux poussés explorant la spécificité étroite du T.M.L. comme il y en a eu pour les systèmes d'inhibition des macrophages.
Etudiant le T.M.L. dans la glomérulonéphrite humaine, BENDIXEN (1968) note que l'homogénat de foie donne les mêmes résultats que l'homogénat de rein. Il peut cependant s'agir d'un antigène commun aux deux tissus.

d/ l'incubation de leucocytes de sujet ayant une réaction cutanée à la tuberculine négative avec le sérum d'un sujet ayant une réaction positive, ne produit pas l'inhibition de la migration (ROSENBERG et DAVID 1970). Donc, cette réactivité à l'antigène est un phénomène cellulaire qui n'est pas transféré par le sérum.

e/ le surnageant d'une culture de lymphocytes périphériques de sujets sensibilisés au streptocoque, en présence de streptokinase et de streptodornase inhibe la migration des leucocytes d'autres sujets (ROCKLIN, MEYERS et DAVID 1970).

L'inhibition de la migration des leucocytes semble donc le fait d'un facteur soluble sécrété par les lymphocytes sensibilisés en présence de l'antigène spécifique. Il pourrait s'agir du M.I.F. ; toutefois, la preuve de l'identité des facteurs responsables des inhibitions respectives de migration des macrophages et de migration des leucocytes n'est pas encore démontrée, le facteur soluble dans le système de SOBORG n'ayant pu être isolé.

f/ Quelles sont les populations cellulaires responsables de l'inhibition de migration ?

1 - ROSENBERG et DAVID montrent que dans beaucoup de cas d'inhibition, il existe une surface interne de migration plus dense et un halo. La composition cellulaire de la surface de migration interne est comparable à celle du mélange initial, tandis que le halo externe est formé uniquement de polynucléaires. Ceci suggère que ce sont les mononucléaires qui sont inhibés dans ce test, par le produit soluble issu des lymphocytes.

2 - SOBORG, en 1969, a précisé, dans un travail élégant ce qui revient à chaque population cellulaire.

Il confirme d'abord que les leucocytes d'un sujet sensibilisé, mis en présence de l'antigène (Brucella) libèrent un facteur qui inhibe la migration des leucocytes non sensibilisés.

Il note alors que les lymphocytes sensibilisés, cultivés seuls en présence de l'antigène, sont incapables de sécréter ce facteur. La présence de granulocytes est indispensable à la production de celui-ci ; il n'est pas nécessaire de faire appel à des granulocytes sensibilisés.

Il formule 3 hypothèses :

* les granulocytes fournissent au facteur sécrété par les lymphocytes du complément qui, joint à la présence de l'antigène, lui confère des propriétés inhibitrices de la migration leucocytaire ; hypothèse peu plausible car on n'a jamais démontré la production de complément par les leucocytes, et parce que l'addition de complément à des cultures de lymphocytes sensibilisés en présence de l'antigène ne donne aucune inhibition.

* l'antigène est modifié par les granulocytes et forme un "complexe antigène" qui, joint au facteur lymphocytaire, forme le principe inhibiteur. Hypothèse en accord avec les propriétés "macrophagiques" des leucocytes et avec la nécessité d'ajouter de l'antigène frais au facteur lymphocytaire pour inhiber la migration de cellules non sensibilisées.

* le facteur lymphocytaire est modifié par les granulocytes, en une nouvelle substance qui peut provoquer l'inhibition avec ou sans antigène.

Ainsi, le système buffy coat est, pour SOBORG, comparable au système lymphocytes-macrophages de DAVID, BLOOM et BENNETT, avec : les cellules inductrices de l'inhibition : les lymphocytes ; et les cellules révélatrices de l'inhibition de migration : les polynucléaires (ou peut-être les monocytes (macrophages), comme ROSENBERG et DAVID le pensent, mais ceux-ci ne représentent que 2 % des cellules, au lieu de 65 % pour les polynucléaires)

3 - STASTNY et ZIFF (1970) vont plus loin encore dans la dépréciation du rôle des lymphocytes, qui d'après eux, n'a aucun rôle dans la libération d'un facteur inhibant la migration des macrophages et des leucocytes. Un tel facteur serait, d'après eux, sécrété uniquement par les polynucléaires. Ceci serait en relation avec l'arrivée plus précoce des polynucléaires dans les foyers inflammatoires.

g/ Ainsi, quels qu'en soient l'origine cellulaire et les caractères physicochimiques, un facteur inhibiteur serait produit par le buffy coat humain sensibilisé en présence de l'antigène, qui inhiberait la migration des leucocytes.

Telle est l'opinion de la majorité des utilisateurs du T.M.L. Il faut toutefois signaler :

- que KALTREIDER avait émis par principe l'hypothèse de la sécrétion par les lymphocytes sensibilisés, d'anticorps cytotoxiques tuant les cellules migrantes (hypothèse pratiquement infirmée par les études de viabilité cellulaire par le test d'exclusion du bleu trypan).

- que, en 1965, WASSERMAN et PACKALEN étudiant la migration des polynucléaires de cobaye dans la thyroïdite immune expérimentale, avaient noté que l'inhibition de la migration des leucocytes n'était pas corrélée avec la réactivité cutanée (celle-ci reflétant l'intensité de la thyroïdite) mais avec les titres d'anticorps sériques. De plus, le sérum d'un animal immunisé pouvait, en présence de thyroglobuline, inhiber la migration de leucocytes normaux. En 1967, ils montrèrent que l'inhibition de cette migration est imputable à des γ_2 globulines.

2.2.3.3. APPLICATIONS DES TESTS D'INHIBITION DE MIGRATION

A l'heure actuelle, les tests ont été principalement appliqués à l'étude des cas suivants :

1) Les états d'hypersensibilité retardée de nature infectieuse

a/ Rappelons pour mémoire que l'inhibition des macrophages a été découverte chez des animaux sensibilisés à la tuberculine.

b/.La Brucellose (Soborg)

.les oreillons : antigène ourlien (Moulias)

.les streptococcies : streptolysine (Moulias)

ont été étudiées par le TML qui a fait la preuve de l'existence d'une hypersensibilité de type retardé dans ces affections, contrôlée par ailleurs par les réactions cutanées.

2) Les affections auto immunes ont été l'objet de nombreux travaux qui tous tendent à montrer l'inhibition de la migration en présence de l'antigène supposé.

a/ l'inhibition des macrophages a été appliquée à :

- l'encéphalomyélite allergique expérimentale (David et Patterson utilisent comme antigène du tissu cérébral d'adulte ou de nouveau né ; Rauch utilise une protéine basique purifiée extraite de l'encéphale)

Le test est positif avant l'apparition de tout signe clinique et chez les animaux ayant une hypersensibilité infraclinique.

- la sclérose en plaques (Bartfeld et Atoynatan) en présence d'extrait cérébral

b/ le TML a été appliqué avec succès à l'étude :

- de la thyroïdite de Hashimoto par Brostoff utilisant un antigène thyroglobulinique et par Moulias et Goust avec un extrait thyroïdien total, un antigène thyroglobulinique et un antigène microsomial.

- du syndrome de Sjögren par Soborg utilisant un extrait de glande parotide.
- des glomérulonéphrites (Bendixen) en présence d'extrait de rein foetal
- de la maladie d'Addison non tuberculeuse (Bendixen)
- de la maladie de Biermer par Brostoff, utilisant comme antigène le facteur intrinsèque, et par Moulias et Goust en présence d'extrait lyophilisé de muqueuse gastrique d'agneau.
- du lupus érythémateux disséminé (Moulias, Goust) en présence d'ADN polymérisé de poisson ou de veau
- des syndromes néphrotiques par Mallick, qui fait appel à un extrait de membrane basale glomérulaire.

L'étude de ces affections possiblement auto immunes et organo-spécifiques met en évidence la fréquence des réactions croisées : ainsi, les biermériens ont souvent un test positif avec les antigènes thyroïdiens ; les thyroïdites de Hashimoto peuvent réagir avec des extraits de muqueuse gastrique ; les glomérulo-néphrites réagissent aussi en présence d'extrait hépatique ; de même, surrénale et para-thyroïde développent des réactions croisées ; les scléroses latérales amyotrophiques réagissent en présence d'extraits de système nerveux et de tissu rénal.

3) <u>Les phénomènes d'immunité de greffe</u>

a/ Falt, Collste et Moller utilisant le test en 2 temps, ont prouvé la production de MIF par des rats inbred sensibilisés à des greffes de peau allogéniques et à des cellules spléniques allogéniques, en cultivant leurs cellules immuno compétentes avec les cellules allogéniques ou leur ultrat-sonat.

b/.Eddleston a utilisé le TML dans un cas de rejet d'une greffe de foie et a démontré l'existence d'une réaction d'hypersensibilité retardée contre les antigènes de l'organe transplanté.

. Smith a montré qu'après une greffe rénale, le receveur se sensibilise dès le 6e jour aux antigènes transplantés : son TML est positif en présence d'extrait rénal ou de leucocytes de donneur.
Un TML positif coïncide avec un mauvais fonctionnement du greffon. Le traitement immunosuppresseur négative le TML et rend le greffon fonctionnel.

. On sait qu'une culture mixte de lymphocytes ne produit pas de MIF : il n'y a pas d'effet inhibiteur, sauf si l'un des sujets a reçu une greffe provenant de l'autre.
En outre, les lymphocytes d'un malade polytransfusé peuvent parfois produire des MIF en culture mixte.

Le TML en culture mixte peut donc être utile pour détecter la sensibilisation par transfusion ou allogreffe.

4) Les tumeurs

a/ Une hypersensibilité aux antigènes de tumeur transplantée a pu être démontrée chaz : des souches de souris inbred immunisées avec des cellules d'hépatome, induit par la diéthylnitrosamine, en utilisant comme antigène des cellules tumorales vivantes (Kronman).

Les mêmes résultats ont été obtenus par des chercheurs utilisant les membranes cellulaires solubilisées d'hépatome de Morris 5123, en opposition avec les membranes de cellules saines qui n'inhibaient pas la migration des macrophages (Kyriazis).

b/ Andersen a pu mettre en évidence une réaction des lymphocytes des femmes atteintes de cancer du sein avec les propres antigènes tumoraux.

5) Lors des déficits immunitaires, l'inhibition de la migration des macrophages (Rocklin) se révèle être un reflet fidèle de l'immunité retardée.

6) Enfin, le TML semble être un moyen d'étude des agents dits immunosuppresseurs

a/ les corticoïdes

- in vivo : les malades corticothérapés semblent produire du MIF comme les sujets non corticothérapés

- in vitro : l'hydrocortisone, même à des doses aussi basses que 1 µg/ml inhibe très fortement la migration spontanée des leucocytes quand elle est mise dans le milieu de culture (Muller-Berat).

b/ on peut lever l'inhibition induite par l'antigène avec des doses de Méthotrexate de l'ordre de 50 µg/ml ; de même qu'avec la Cyclophosphamide, alors que la L-asparaginase est sans effet aux doses de 100 U/ml (Muller-Berat)

c/ Smith a montré, au cours des transplantations rénales, le parallélisme du TML et de l'efficacité des immunosuppresseurs.

d/ Quant au sérum antilymphocytaire, son action n'est pas univoque, suggérant soit une action antilymphocyte discrète (inhibition de la migration) cas le plus fréquent, soit une action immunosuppressive (stimulation de la migration) de facon beaucoup plus rare.

e/ Chez des malades traités par Azathioprine, la production de MIF est inhibée alors que la transformation blastique persiste (VINCENT 1972, communic. personnelle)

2.2.3.4. CRITIQUE DES TESTS D'INHIBITION DE LA MIGRATION

Des questions multiples se posent à propos de ces techniques.

2.2.3.4.1. Critiques méthodologiques

A. Pour l'ensemble des techniques

1) Rôle des facteurs mécaniques

Comme il existe une dénivellation entre le centre du tube capillaire qui contient les cellules et le fond de la cuve où se trouve le milieu nutritif, on peut présumer que des cellules vont, en 24 heures, littéralement "glisser" voire tomber du tube, par simple gravité, jusqu'à former un monticule en pente douce qui relie l'orifice du tube au fond de la

cuve. L'effet de la gravité sera potentialisé par les mouvements browniens, eux-mêmes facilités par la sustentation liquidienne.

C'est exactement ce qu'observent Kaltreider d'une part (1969) Brogan d'autre part (1972) : "les cellules tombent" et sont l'objet d'un mouvement brownien "au hasard" qui pousse les cellules vers la périphérie du culot. Les variations de l'indice de migration pour un même sujet, en présence ou en l'absence d'antigène, vont de 8 à 35 %, la moyenne étant de 18 % (Brogan). Kaltreider démontre le rôle de la gravité en inclinant la chambre dans différentes positions : aucune migration ne se produit en position verticale ; à 45°, les cellules s'accumulent à la base du tube et sur les côtés de la chambre. Les globules rouges seuls produisent des figures de migration identique. Les auteurs mettent alors en doute le rôle de l'immunité dans la figure obtenue. On peut leur objecter que si les conditions balistiques sont les mêmes pour toutes les cuves, toute différence mérite d'être interprétée.

2) De très nombreux détails techniques ont une influence importante ou primordiale (Rosenberg)

- il faut utiliser une héparine ayant comme préservant de l'alcool benzylique et non du phénol -qui tue les cellules-
- L'utilisation du Dextran à 0,6 %, prônée par certains, semble interférer avec l'inhibition de la migration.
- Il ne faut pas récupérer au moment du prélèvement du plasma le dernier millilitre, qui enrichirait la population cellulaire en mononucléaires.
- Faut-il mesurer la surface externe ou la surface interne de migration ?
- Le milieu nutritif est un soluté d'acides aminés enrichi de sérum de veau foetal ou de sérum de poulain. Ce milieu ne peut-il réagir immunologiquement avec les cellules sensibles ?
- Ce n'est que par tâtonnements que l'on arrive à la concentration antigénique optimale : une dose trop forte causant une inhibition non spécifique, une dose trop faible risquant de ne pas induire l'inhibition de leucocytes sensibilisés.

- La concentration cellulaire dans la dilution finale semble jouer un rôle dans l'importance du DM (rapport de la différence entre les valeurs extrêmes d'indice de migration des témoins sans antigène sur la moyenne arithmétique des indices de ces témoins) : Goust, 1971.

Quand il y a moins de 8 000 globules blancs par mm3, le DM est supérieur à 0,10 Il est inférieur à 0,10 pour une concentration de globules blancs comprise entre 8 000 et 12 000 par mm3.

- Le TML est moins sensible que le TTL aux contaminations bactériennes, de par sa durée plus brève. Celles-ci demeurent cependant toujours possibles, pouvant peut-être fausser les résultats.

3) Rôle des facteurs humoraux

Il se forme un micro caillot de fibrine (parfois réduit à une ébauche) à l'interphase cellules-surnageant dans le tube capillaire centrifugé. C'est pourquoi il convient de couper celui-ci plutôt du côté du culot que du côté du surnageant afin de l'éliminer car il pourrait faire obstacle à la migration cellulaire.

Cependant, Brogan remarque qu'il existe aussi des petites parcelles de fibrine liées aux cellules dans le sang hépariné, facteurs de formation d'amas cellulo fibrineux et d'agrégats cellulaires qui risquent de fausser l'appréciation de la réaction. Il faudrait pour pallier cet inconvénient des doses très fortes d'héparine, de l'ordre de 450 UI par millilitre.

4) Les antigènes HLA éventuellement situés sur la préparation antigénique peuvent rendre compte des résultats positifs chez des sujets polytransférés ou des femmes multipares.

5) Des réactions croisées sont possibles.

B. Plus spécialement pour le test en 2 temps avec macrophages de cobaye

1) une sensibilisation à des antigènes d'espèce (hétéro-antigènes) est toujours à craindre, pouvant donner un résultat faussement positif.

2) Il existe entre macrophages de cobaye et lymphocytes humains des différences métaboliques certainement importantes. On doit se demander si celles-ci ne peuvent parfois être cause d'une solution de continuité dans l'expression des phénomènes immuns. (les particularités des macrophages alvéolaires et des macrophages péritonéaux font que les premiers sont étroitement spécifiques d'espèce, au contraire des seconds).

3) La détection du M.I.F. est reproductible et ne donne pas des résultats positifs faux. Cependant, un résultat négatif n'a pas de valeur absolue et doit faire répéter l'examen (ROCKLIN).

C. Plus spécialement pour le T.M.L. (technique de SOBORG et BENDIXEN)

Le sang périphérique contient environ :

65 % de polynucléaires

30 % de lymphocytes

5 % de monocytes

Les lymphocytes avant une migration faible ou nulle (BLOOM et BENNETT, 1966) et la production de cellules qui migrent étant supérieure à 5 %, les cellules qui migrent sont ici les polynucléaires qui sont donc les cellules réactives.

Ceci est en contradiction avec les assertions d'autres auteurs : on a montré effectivement que ce sont les polynucléaires qui forment le halo extérieur de la surface de migration tandis que la partie interne, qui paraît la plus intéressante est formée par le mélange de lymphocytes et de polynucléaires.

2.2.3.4.2. Critique des résultats

Elle s'adresse essentiellement au TML de Soborg et Bendixen, les réactions d'inhibition de la migration des macrophages ayant fait la preuve de leur bonne corrélation avec les tests cutanés d'hypersensibilité retardée.

Kaltreider, comparant les résultats du TML et des intradermo réactions à la tuberculine PPD ne retrouve aucune corrélation entre les données des deux tests, même en faisant varier certains paramètres techniques. De plus, il accuse le TML de n'être pas reproductible, notant de grandes variations de l'indice de migration pour un même sujet lorsqu'on répète le test.

Lockshin (1969) abonde dans le même sens, tant en ce qui concerne l'hypersensibilité à la tuberculine que le rhume des foins, suivi en 1971 par Claudy et Thivolet.

Pour Lockshin, l'inhibition de migration des leucocytes n'est pas un phénomène immunologique à la différence de l'inhibition de la migration des macrophages.

Cependant que Soborg pense d'abord qu'il est nécessaire de faire appel à des antigènes particulaires (idée qu'il abandonnera quand il obtiendra lui-même des résultats positifs avec des antigènes solubles), Brostoff et Roitt prennent la défense du TML (qu'ils modifient légèrement : culture préalable pendant 24 heures, des leucocytes en présence d'antigène avant la migration) : les échecs de Kaltreider et de Lockshin peuvent d'après eux s'expliquer par :

- l'absence de serum dans le milieu nutritif
- l'utilisation de doses d'antigène trop faibles (il faut utiliser des doses subtoxiques)
- une toxicité éventuelle de la tuberculine.

Brostoff et Roitt insistent sur la corrélation du TML avec les réactions cutanées retardées, la normalité du test chez les sujets sains, la faible marge de variation des indices chez les patients, la reproductibilité des résultats, à condition d'une lecture rigoureuse des tests. Cependant ils admettent que la preuve de la sécrétion du MIF n'a pas été faite dans le TML qui n'en demeure pas moins un excellent test d'hypersensibilité retardée.

2.2.3.4.3. Critique de l'interprétation

Si les travaux de Rosenberg et David sont venus appuyer de leur autorité les hypothèses de Soborg et Bendixen, si le TML semble bien refléter l'hypersensibilité retardée, le mécanisme interne du phénomène est loin d'être connu.

On ne peut ici accepter l'hypothèse de la secrétion par les lymphocytes sensibilisés d'un facteur inhibant la secrétion des macrophages, puisque la majorité des cellules révélatrices sont des polynucléaires. La sécrétion d'un PIF (polymorphonuclear inhibitory factor) supposée par Ziff n'est pas prouvée.

Cependant Stastny et Ziff ont prouvé que le surnageant de culture de buffy coat humain ou de polynucléaires de cobaye en l'absence d'antigène, inhibe la migration des macrophages de cobaye, ce qui semble bien indiquer la sécrétion ou l'activation par les polynucléaires d'un facteur inhibiteur, ce qui apporte une justification à la technique de Soborg. Ce serait une substance dialysable, thermostable, de petit poids moléculaire (4 000).

On connaît trop peu de choses sur le rôle des polynucléaires dans les réactions immunitaires pour accepter sans réserves cette hypothèse. Cependant, il faut noter qu'elle est en accord avec le fait que lors de la constitution d'un foyer inflammatoire, les polynucléaires sont les premières cellules à affluer, avant les monocytes.

En fait, le problème est le suivant :
S'agit-il d'un facteur soluble libéré par les leucocytes humains ?
Ce facteur est-il semblable au MIF trouvé chez l'animal ? Quelle cellule le secrète ?

On n'a pu isoler jusqu'à maintenant de facteur soluble dans le système de Soborg. Ses expériences mettent l'accent sur la coopération nécessaire entre lymphocytes sensibilisés et polynucléaires pour la sécrétion de facteurs inhibiteurs.

2.2.4. LES AUTRES LYMPHOKINES.

Le MIF n'est pas la seule substance libérée lors de la réaction immunitaire par le lymphocyte sensibilisé.

On a décrit jusqu'à présent une douzaine de facteurs solubles libérés par le lymphocyte sensibilisé lors du contact avec l'antigène. Peut-être conviendrait-il mieux de parler d'activités biologiques plutôt que de facteurs isolés.

1) Le facteur chemotactique

Le facteur chemotactique est une albumine de même poids moléculaire que le MIF.

Il est responsable de l'afflux de cellules inflammatoires de la réaction intradermique après injection de l'antigène à un individu sensibilisé. Il y aurait pour certains 2 facteurs chemotactiques, l'un pour les macrophages, l'autre pour les polynucléaires. Le MIF immobiliserait et activerait les macrophages sur le lieu de la réaction.

2) Le facteur inflammatoire cutané (skin reactive factor)

L'injection intradermique du surnageant d'une culture de lymphocytes sensibilisés en présence de l'antigène spécifique pendant 24 heures provoque une réaction inflammatoire locale érythémateuse et indurée qui apparaît à la 3e heure et disparaît à la 30e. L'afflux cellulaire est semblable à celui de la réaction tuberculinique.

Très proche du MIF sur le plan biochimique, à la différence du facteur chemotactique, il en diffère par la nécessité d'une concentration 10 fois plus forte pour provoquer un effet biologique.

Comme le MIF, il est aussi sécrété sous l'action de mitogènes non spécifiques (P.H.A., Con. A), aussi bien que sous l'action d'un conflit immunologique.

Ce facteur inflammatoire serait secrété par les lymphocytes non thymodépendants, après action sur ceux-ci des lymphocytes thymodépendants mis en présence de l'antigène.

C'est une α_1 glycoprotéine de poids moléculaire 70 000.

3) Le facteur mitogénique (Dumonde et Woltencroft ; Ling)

Le surnageant d'une culture de lymphocytes sensibilisés en présence de l'antigène a sur les lymphocytes normaux un effet mitogène, comme l'atteste la mesure de l'incorporation de la thymidine tritiée ou de l'uridine tritiée.

Cette activité apparaît après 4 heures de culture.
Elle ne se manifeste qu'après dilution du surnageant. Le facteur mitogénique semble produit par les T lymphocytes.

Il agit aussi bien sur les cellules thymodépendantes que sur les cellules médullodépendantes (Vischer 1971).

Ainsi, ce facteur active et recrute des lymphocytes non sensibilisés et joue le rôle de trait d'union entre T cells et B cells.

C'est une α_1 globuline de PM compris entre 30 et 80 000, qui apparaît après 4 heures de culture.

4) Le facteur lymphotoxique (Ruddle et Waksman)

Il a surtout été étudié dans l'immunité de greffe, les lymphocytes du receveur acquérant un pouvoir cytotoxique vis à vis de toutes les cellules syngéniques à la greffe. Un effet identique est noté dans les cultures mixtes de lymphocytes.

On peut aussi mettre en évidence un pouvoir cytotoxique dans le surnageant d'une culture de lymphocytes sensibilisés en présence de l'antigène, ou après action sur des lymphocytes normaux de PHA ou de sérum antilymphocytaire, voire même par culture continue de cellules lymphoïdes.

Le facteur lymphotoxique est une albumine de PM 80 000 dont la sécrétion débute 2 heures après le contact antigénique.

5) Le facteur de transfert

Il fut découvert par Lawrence en 1955, 23 ans après la transmission par Landsteiner et Chase de l'hypersensibilité à la tuberculine par injection de cellules lymphoïdes sensibilisées.

C'est une molécule de petit PM : 4 à 5 000 capable de transmettre à un individu normal une hypersensibilité retardée spécifique de l'antigène qui a induit sa sécrétion par les lymphocytes.
Une heure de contact suffit à sa libération.

Le facteur de transfert est un initiateur d'immunité cellulaire spécifique de l'antigène inducteur, qui a un rôle de recrutement des lymphocytes. Il semble capable de faire secréter par des lymphocytes normaux les autres lymphokines lorsqu'ils sont mis en présence de l'antigène dont il est spécifique.

6) Divers facteurs inhibant la croissance cellulaire ont été décrits :

- cloning inhibition factor
- prolifération inhibition factor
- facteur inhibiteur de la synthèse d'ADN.

7) Quant au facteur stimulateur de la libération d'histamine par les plaquettes (Henson), véritable trait d'union entre réaction immunitaire et réaction inflammatoire, on n'a pu encore préciser avec exactitude le type cellulaire dont il estissu. Il est sécrété en totalité entre la 3e et la 15e minutes après le contact antigène-leucocytes.

8) Interféron (Wheelock)

Il est sécrété par les lymphocytes en culture en présence de divers mitogènes aspécifiques, entre la 2e et la 20e heures de culture.

Son rôle préventif de l'infection virale explique la fréquence des viroses dans tous les états de déficit immunitaire cellulaire.

9) Nous ne ferons que citer le "lymph node permeability factor" de Willoughby qui faciliterait le passage des leucocytes et du plasma vers les espaces extra vasculaires.

Toutes ces lymphokines participent à la réaction immunitaire. Mac Cluskey et Benacerraf ont imaginé le schéma suivant :

1 . Le lymphocyte sensibilisé thymo dépendant mis en présence de l'antigène spécifique sécrète :

- le facteur de transfert, qui produit le recrutement et la prolifération des lymphocytes thymodépendants.
- le facteur mitogénique, qui produit le recrutement et la prolifération des lymphocytes thymo et médullo dépendants.

2. Les lymphocytes, activés par la présence de l'antigène, sécrètent activement les autres lymphokines, notamment :

- le facteur chémotactique, qui attire les macrophages et les polynucléaires au site de la réaction.

- le MIF qui immobilise les macrophages au même site et augmente leur activité de membrane, leur phagocytose, et probablement leur bactéricidie.

- la lymphotoxine.

La réaction immunitaire résulte de l'interaction de ces différents facteurs.

3 - TRAV AUX PERSONNELS

Nous avons cherché à mettre en évidence dans les Polyarthrites rhumatoïdes des phénomènes immuns de type retardé ou cellulaire, en prenant comme antigène le tissu qui paraît être le lieu préférentiel du conflit : la synoviale, au moyen des trois tests reconnus à l'heure actuelle comme reflétant le mieux ces phénomènes :

. la réaction intra-dermique (I.D.R.)

. le test de transformation lymphoblastique (T.T.L.)

. le test d'inhibition de la migration des leucocytes (T.M.L.)

3.I. Matériel et Méthodes

3.I.I. Choix des sujets (Tableau N° 1)

3.I.I.I. Le test de migration leucocytaire a été fait chez 69 sujets comprenant

- 9 sujets sains
- 33 Polyarthrites rhumatoïdes
- 27 sujets atteints d'affections diverses

a) 9 sujets sains, âgés de 2I à 33 ans au moment du T.M.L., appartenant au personnel médical.

b) 33 Polyarthrites rhumatoïdes dont

26 séro-positives, parmi lesquelles

9 ont un test de la rosette rhumatoïde positif

9 ont un test de la rosette rhumatoïde négatif

8 n'ont pas eu de test de la rosette

7 séro-négatives, parmi lesquelles

3 ont un test de la rosette rhumatoide positif

2 ont un test de la rosette rhumatoide négatif

2 n'ont pas eu de test de la rosette

Les âges des malades s'étalent entre 2I et 75 ans.

La durée de la maladie varie entre I mois et 28 ans.

La répartition des stades cliniques selon la classification de Steinbrocker est la suivante

Stade I	1 cas
II	11 cas
III	19 cas
IV	2 cas
Total	33 cas

Les destructions radiologiques sont très variables d'un cas à l'autre, tous les échantillons de gravité étant représentés.

Il en est de même pour l'évolutivité, appréciée sur la vitesse de sédimentation à la première heure

1 à 20 mm	7 cas
21 à 40 mm	11 cas
41 à 60 mm	8 cas
supérieure à 60 mm	7 cas
Total	33 cas

Nous n'avons choisi pour cette étude que des Polyarthrites rhumatoïdes typiques en excluant tous les malades suspects d'appartenir à une forme frontière avec une connectivite majeure.

Aucun malade n'a de cellules L.E.

Seuls 7 malades ont des cellules B.

9 malades ont des facteurs antinucléaires, dont I au taux de I/500, mais ils présentent tous une polyarthrite typique par ailleurs avec notamment des lésions radiologiques.

Enfin, trois seulement ont dans leur synoviale des stigmates d'atteinte vasculaire, mais ils coexistent soit avec un aspect rhumatoïde typique (2 cas) soit avec un aspect cicatriciel (1 cas).

2 des 33 polyarthrites rhumatoïdes sont des polyarthrites juvéniles

l'une a débuté à I4 ans et est restée séro-négative (n° 27)

l'autre a débuté à I6 ans et s'est positivée (n° 1)

Enfin, au moment du test,:

trois malades sont sous immuno-suppresseurs (Chlorambucil) (n° I3-I5 et 29)

dix-huit malades ont un traitement corticoïde ou corticotrope (n° 3, 4, 5, 6, 9, I3, I6, I8, 20, 2I, 22, 23, 24, 26, 27, 29, 3I, 32).

c) 27 sujets hospitalisés pour diverses affections, âgés de I8 à 69 ans

2 Polyarthrites psoriasiques

1 Goutte

1 Chondrocalcinose articulaire

2 Néoplasies

1 Echinococcose osseuse

12 Lombosciatiques

1 Périarthrite scapulo-humérale

1 Périostite syphilitique

2 syndromes de FIESSINGER-LEROY-REITER

1 Maladie de Paget

1 Ostéonécrose des tetes fémorales

1 Spondylarthrite ankylosante

1 Syndrome de WISSLER-FANCONI de l'adulte

3.I.I.2.L'intradermo-réaction a été faite chez I7 sujets

- I5 Polyarthrites rhumatoides dont

I2 séro-positives

7 ayant un test de la rosette positif

5 ayant un test de la rosette négatif

3 séro-négatives

1 ayant un test de la rosette positif

2 ayant un test de la rosette négatif

- 1 Spondylarthrite ankylosante

- 1 Arthrite septique du genou

3.I.I.3. Le test de transformation lymphoblastique en présence d'extrait synovial a été fait chez 11 sujets présentant une polyarthrite rhumatoide typique.

3.I.2. Techniques

3.I.2.I. Test de migration des leucocytes - technique de Seborg et Bendixen

30 ml. de sang prélevés sur 25.000 u d'héparinate de calcium sont mis à sédimenter pendant 1 heure à 37°.

Le plasma surnageant, contenant des polynucléaires et des mononucléaires est centrifugé à 2.000 tours par minute pendant I0 minutes et le culot cellulaire obtenu est lavé trois fois avec du milieu Eagle (Difco). Les cellules sont ensuite remises en suspension dans du milieu Eagle contenant I5 % de sérum de poulain (Institut Pasteur), de manière à obtenir une concentration d'environ $50.I0^6$ cellules/ml.

Cette suspension cellulaire est remise dans des tubes capillaires héparinés (longueur 75 mm., diamètre intérieur 1,3 mm.)

Les tubes capillaires, scellés à la flamme à une extrémité, sont centrifugés stérilement à 2.000 t/mn. pendant IO minutes.

Les tubes capillaires sont ensuite coupés au niveau de l'interligne cellules-milieu et collés à l'aide d'une goutte de silicone dans des chambres contenant 1 ml. de milieu (2 tubes capillaires sont placés dans chaque chambre).

La lecture de la migration des leucocytes est faite après 24 heures de culture par projection sur un écran de microscope. Les surfaces de migration décalquées sont ensuite pesées.

L'index de migration est le rapport

$$I = \frac{M_1}{M_o} = \frac{\text{moyenne des surfaces de migration en présence de l'Ag.}}{\text{moyenne des surfaces de migration en absence de l'Ag.}}$$

Le test est jugé positif si l'index est inférieur ou égal à 0,75 ; négatif s'il est égal ou supérieur à 0,76.

Antigènes utilisés

1 - Extrait de synoviale saine

2 - Extrait de synoviale de polyarthrite rhumatoide

3 - Extrait de péricarde

4 - Extrait de foie

Préparation des extraits

Les synoviales saines et rhumatoïdes sont prélevées sur le vivant à l'occasion d'une intervention ; un fragment hépatique et un fragment de péricarde sont prélevés sur le cadavre frais ; les tissus

---

Calciparine Choay

sont conservés à -20° en attendant d'être broyés stérilement par un Ultra-Turrax en milieu tampon phosphate (pH = 7,4) en prenant soin de refroidir le récipient pour éviter toute altération thermique du tissu.

On obtient ainsi un extrait tissulaire qui est filtré sur filtre millipore (0,45 µ).

Le dosage des protéines par la méthode de Folin permet ensuite de diluer la solution avec le milieu Eagle de façon à obtenir la concentration désirée.

Doses utilisées.

50, 25 et I2,5 µg/ml, doses qui, chez des témoins normaux ne produisent pas une inhibition de la migration des leucocytes.

3.I.2.2. Intradermo réaction

a) Vis-à-vis des 2 sujets ne présentant pas de polyarthrite rhumatoïde, nous avons utilisé uniquement l'extrait de synoviale saine à la concentration de 20 µg. de protéines dans 0,I ml. (1 et 2)

b) Les sujets atteints de polyarthrite rhumatoïde ont tous reçu un extrait de synoviale saine et
un extrait de synoviale rhumatoide

- I0 d'entre eux à la dose de 20 µg. dans 0,I ml. (3,4,5,9,I0,II,I2,I3,I5,I6).
- les 5 autres à la dose de 200 µg. dans 0,I ml. (6,7,8,I4,I7).

La lecture est effectuée entre le 2ème et le 8ème jours.

3.I.2.3. Test de transformation lymphoblastique
(technique modifiée d'après HALPERN)

Prélèvement de sang sur héparinate de Calcium* 500 U/ml
sédimentation des cellules en tube incliné à 45° à la température de 37°C

* CALCIPARINE CHOAY

pendant 1 heure. Le surnageant est filtré sur une colonne de coton (3g. pour I5 ml de plasma), procédé qui permet d'obtenir une préparation riche en lymphocytes (90 - 95%) et d'éliminer les polynucléaires et les monocytes.

La culture des lymphocytes est faite sur milieu Eagle L (Difco), additionné de 3 ml d'une solution de glutamine à 5 pour cent, de I00 U/ml. de pénicilline et de 50 ug/ml. de streptomycine. La concentration étant de I à 2 x $I0^6$ cellules/ml., on ajoute 20 à 50 pour cent de plasma autologue ou de sérum de veau foetal.

On apprécie la vitalité des cellules cultivées et d'éventuelles modifications morphologiques dans un tube ne contenant pas de stimulant. Une autre culture contenant 0,I ml. de phytohémagglutinine (P.H.A.) M (Difco) à la dilution de I/I5 pour 3 ml. de suspension cellulaire permet d'apprécier l'activité de synthèse par la transformation blastique des cellules cultivées.

On lit sur lame, trois jours après la mise en culture, en classant au moins 500 éléments, en petits ou grands lymphocytes, cellules transformées ou blastiques, cellules en mitose, sans tenir compte des cellules intermédiaires.

3.2. RESULTATS

3.2.I. LE TEST DE MIGRATION LEUCOCYTAIRE (T.M.L.)

1) Les 9 sujets sains (Tableau N° 2)

Nous avons testé dans un premier temps les doses d'antigène qui chez les sujets normaux ne produisent pas d'inhibition de la migration. Ainsi, les doses de 200 et I00 µg. de protéine par millilitre produisent une inhibition non spécifique.

En utilisant des doses de 50, 25 et I2,5 µg/ml. chez 9 sujets normaux, nous n'avons jamais obtenu une inhibition de la migration

Cette négativité constante du test chez 9 sujets sains était la condition indispensable à toute interprétation du T.M.L. chez les malades. Les résultats positifs obtenus chez ceux-ci prennent ainsi une valeur indéniable.

Une seule critique est à faire à ce choix de témoins il s'agit seulement de sujets jeunes (2I à 33 ans) ce qui ne correspond pas aux tranches d'âge de nos malades. Aussi nous semblerait-il souhaitable de contrôler les résultats négatifs par l'étude de sujets sains plus agés.

2) Les malades

a - Polyarthrites Rhumatoides (Tableau N°3)

1) - Si nous considérons que le T.M.L. est positif lorsque 2 index au moins sur 3 sont inférieurs ou égaux à 0,75 en présence des différentes concentrations d'extrait synovial, l'étude des tableaux montre que d'une façon générale, les leucocytes d'un sujet donné se comportent approximativement de la même façon vis à vis de la synoviale saine et vis à vis de la synoviale rhumatoïde.

Ainsi, les polyarthrites n° 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 11, I2, I3, I4, I5, 27, 29, 30, ont un T.M.L. positif aussi bien en présence d'extrait de synoviale saine qu'en présence d'extrait de synoviale rhumatoïde.

De même les Polyarthrites Rhumatoïdes n° I6, I8, I9, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 3I, 32, 33 ont un T.M.L. négatif en présence des 2 extraits.

Seules ont une réponse discordante les polyarthrites rhumatoïdes n° 3, 8, I0, I7, 2I, 28, qui ont un T.M.L. positif en présence d'extrait de synoviale rhumatoïde seulement (T.M.L. négatif en présence d'extrait de synoviale saine).

Il est à noter qu'aucune polyarthrite rhumatoïde ne donne un T.M.L. positif avec le seul extrait de synoviale saine.

Cette constatation (T.M.L. identique, le plus souvent vis à vis des deux antigènes) nous autorise à considérer que le test est positif si 4 au moins des 6 index obtenus sont inférieurs ou égaux à 0,75 (ou, dans le cas ou nous n'avons pas pu calculer 6 index, si plus de la moitié des index sont inférieurs ou égaux à 0,75).

2) - Sur 33 Polyarthrites rhumatoïdes, I9 donnent un T.M.L. positif, vis à vis de l'extrait synovial, soit 58 %, qui se répartissent ainsi

I5 polyarthrites rhumatoïdes séro-positives sur 26 (58 %)
4 polyarthrites rhumatoïdes séronégatives sur 7 (57 %)

Comparés aux résultats d'ensemble, (Tableau N°I3), ces résultats sont significatifs, puisque le T.M.L. est positif chez I0 seulement des 36 sujets témoins (comprenant les témoins sains), soit 28 % des cas.

La comparaison entre ces deux groupes montre une différence significative ($p. < 0,02$) par test du X^2.

. Relation entre le T.M.L. et les caractères de la polyarthrite rhumatoïde

Les tableaux 4 et 5 montrent qu'il n'y a aucune corrélation entre la positivité du T.M.L. et

- l'âge du malade
- la durée d'évolution
- les caractères radiologiques
- les caractères biologiques, en particulier,

l'intensité du syndrome inflammatoire
le degré de séro-positivité
le résultat des rosettes rhumatoïdes
les données de la biopsie synoviale

Il faut aussi noter, en tenant compte du rôle du lymphocyte dans l'hypersensibilité retardée, qu'il n'y a pas de corrélation avec les résultats du T.T.L. à la P.H.A.

Le traitement ne semble pas non plus influer sur le T.M.L. qui s'avère totalement indépendant de l'existence d'une corticothérapie lors du test.

	Corticothérapie lors du test	Pas de Corticothérapie lors du test
T.M.L. (+)	8	11
T.M.L. (-)	10	4

Répartition des T.M.L. (+) dans la polyarthrite rhumatoïde suivant la Corticothérapie

Parmi les polyarthrites rhumatoides séro-positives, aucune corrélation ne peut être établie entre la positivité du test et un autre paramètre (Tableau n° 4).

Parmi les polyarthrites rhumatoides séro-négatives aucune corrélation ne peut, non plus être faite, ce d'autant que le nombre de sujets testés est faible (Tableau n° 5).

3) - La recherche d'un effet dose s'avère négative chez toutes les polyarthrites rhumatoides.

. aussi bien chez les sujets qui extériorisent une inhibition

. que a fortiori, chez ceux qui n'en extériorisent pas.

Il n'y a d'effet dose ni direct, ni inverse. (Tableau n° 6)

4) - I3 des 33 polyarthrites rhumatoïdes testées ont en outre subi un test de migration leucocytaire en présence d'extrait aqueux de péricarde et de foie à la concentration de 50 µg/ml. Notre intention était de chercher à savoir si les leucocytes des polyarthrites rhumatoïdes donnant un T.M.L. positif en présence de synoviale étaient aussi inhibés en présence d'extraits tissulaires différents, ou si au contraire, cette inhibition était spécifique du tissu synovial.

Sur les I2 polyarthrites rhumatoïdes ainsi testées, seules 4 avaient un T.M.L. positif en présence de synoviale.

. 2 d'entre elles ont un T.M.L. positif en présence d'extrait hépatique et en présence d'extrait péricardique (n° 2, I2)

. les 2 autres (n° 8, 27) ne sont inhibées ni par le foie, ni par le péricarde.

Les 8 polyarthrites rhumatoïdes ayant un T.M.L. négatif en présence de synoviale sont aussi T.M.L. négatif en présence de foie (sauf 1 : n° 25) et en présence de péricarde (sauf 2 : n° 26, 32)

b) Affections diverses

27 sujets atteints d'affections diverses ont été testés (Tableau n°1)

Le résultat d'ensemble est représenté sur le tableau n° 8.

1)- L'étude des résultats détaillés (Tableau n° 9) montre là encore que les leucocytes d'un sujet se comportent approximativement de la même façon vis à vis de la synoviale saine et vis à vis de la synoviale rhumatoïde, si l'on convient de considérer que le T.M.L. est positif lorsque 2 index au moins sur 3 sont inférieurs ou égaux à 0,75 en présence des différentes concentrations d'extrait synovial.

Ainsi les malades n° 1', 3', 5', 6', 7', 8', 9', I0', II' ont-ils un T.M.L. positif aussi bien en présence d'extrait de synoviale saine quen présence d'extrait de synoviale rhumatoide.

De même les malades n° 2', I2', I3', I4', I5', I6', I7', I8', I9', 20', 2I', 24', 26', 27', ont-ils un T.M.L. négatif en présence des 2 extraits.

Seuls ont une réponse discordante les malades n° 4', 22', 23', 25', positifs en présence de synoviale rhumatoïde seulement.

Cette constatation nous autorise à considérer que le test est positif, si 4 au moins des 6 index obtenus sont inférieurs ou égaux à 0,75 (ou, dans le cas où nous n'avons pu calculer les 6 index, si plus de la moitié des index sont inférieurs ou égaux à 0,75). C'est ainsi que, des 4 malades à réponse discordante, seul finalement le sujet n°4 est considéré comme donnant un T.M.L. positif.

2 - Sur 27 malades testés, IO seulement ont un T.M.L. positif, soit 37 % des cas (pourcentage qui, rappelons-le, tombe à 28 % si on considère l'ensemble des sujets non polyarthritiques, comprenant aussi 9 sujets sains).

Ces cas se répartissent de la façon suivante :

- 1 Polyarthrite Psoriasique (sur 2 testées) (Tableau n° IO)

Il s'agit d'une malade(n°1') qui présente une atteinte polyarticulaire très destructrice ayant débuté en I969 de façon brutale, quelques jours après une angine. L'atteinte de l'état général est très importante, la malade est clouée au lit. Les radiographies objectivent le délabrement articulaire.

Le diagnostic de polyarthrite psoriasique s'appuie sur :

. La biopsie d'éléments cutanés (prédominant autour des ongles)

. l'atteinte radiologique des interphalangiennes distales.

Or, cette malade a présenté en I970 un nodule rhumatoïde typique de l'avant-bras, authentifié par l'examen histologique, alors que la sérologie rhumatoïde est négative.

On peut donc discuter la coexistence d'une polyarthrite psoriasique et d'une polyarthrite rhumatoïde séro-négative.

La positivité du T.M.L. dans ce cas nous semble d'autant plus interessante

. que la sérologie rhumatoïde est négative,

. de même que le test des rosettes 2 fois sur 3,

. et que la malade reçoit depuis 6 mois lors du test :

I2 mg de CORTANCYL/jour

I2 mg de CHLORAMBUCIL /jour

La deuxième polyarthrite psoriasique (malade n°2'), qui a un T.M.L. négatif, est tout à fait typique de rhumatisme psoriasique,

et ne prête pas à discussion.

- 1 Goutte primitive (n°3')

Rappelons à ce sujet la fréquence de la positivité de la sérologie rhumatoïde et du test des roseltes rhumatoides lors de cette affection.

- 1 Chondrocalcinose (n°4')

Il serait souhaitable de tester une série de Gouttes et de Chondrocalcinoses pour chercher si la parenté physio-pathogénique est à rapprocher de l'identité des réponses en T.M.L.

- 2 Néoplasies en évolution (n° 5' et 6')

L'un des deux malades est atteint de métastases osseuses multiples d'un papillome vésical qui a récidivé après 3 électrocoagulations ; il présente aussi une polymyosite paranéoplasique.

L'autre malade est porteur de métastases intra-crânienne, hépatique, et épidurale lombaire d'un néoplasme de siège indéterminé.

La positivité du T.M.L. chez ces deux malades est peut-être à rapprocher des troubles immunitaires que l'on décèle avec une particulière fréquence chez les cancéreux.

Il s'agit, il est vrai, le plus souvent, d'une dépression des réactions d'hypersensibilité retardée, qui ont été parfaitement étudiées en France dans la maladie de Hodgkin par BOUSSER et collaborateurs aux Etats-Unis chez les cancéreux opérés, par EILBER et MORTON (qui ont démontré la valeur pronostique péjorative de cette dépression immunitaire).

Remarquons cependant que l'étude de l'hypersensibilité retardée chez les cancéreux a été faite essentiellement par les réactions cutanées.

De plus, cette dépression immunitaire n'est pas constante, la réactivité immunitaire pouvant être normale voire dans certains cas exacerbée vis à vis d'un antigène précis. On peut en rapprocher la positivité du T.M.L. en présence d'A.D.N. chez les lupiques en poussée (MAULIAS) qui prend une signification d'autant plus nette que l'on sait que dans le lupus, les réactions d'immunité retardée sont déprimées.

Pour tenter d'expliquer la positivité du T.M.L. vis à vis de l'extrait synovial, on peut avancer 2 hypothèses.

1 - une altération des leucocytes qui les rend impropres à la migration, pour des raisons mécaniques ou biologiques : l'"inhibition" de la migration n'est alors pas un phénomène immunologique.

2 - une parenté immunologique entre divers tissus normaux ou pathologiques, l'inhibition de la migration est dans ce cas un phénomène réellement immunologique, traduisant une réaction de défense du malade contre ces antigènes.

- 1 Echinococcose osséuse (n°7')

La diversité très probable des antigènes présents dans le taenia échinocoque et la méconnaissance dans laquelle nous sommes vis à vis de ceux-ci laisse place à toutes les interprétations.

Ce malade, qui se présentait cliniquement comme porteur d'une tumeur de la tête humérale gauche, n'a pas eu, avant l'intervention qui a permis de faire le diagnostic, de recherche immunologique d'échinococcose.

- 4 Lombo-sciatiques (sur I2 testées) n° 8',9',I0',II')

(Tableau n° I2)

L'examen de ces cas fait ressortir que les 4 sujets ayant un T.M.L. positif évoluent depuis plus d'un an dans leur maladie.

Au contraire, 5 des 8 sujets qui ont un T.M.L. négatif sont atteints depuis moins d'un an (n° I2', I3', I4', I6', I9',) ; 3 seulement depuis plus d'un an (n°I5', I7', I8') ; encore faut-il noter que la malade n° I8' a été irradiée pour une néoplasie utérine, et que la malade n° I5' a un syndrome inflammatoire cryptogénétique qui perturbe peut-être les réactions immunologiques.

Les I7 résultats négatifs se répartissent ainsi :

- outre 1 polyarthrite psoriasique
  8 lombo-sciatiques
- 1 spondylarthrite ankylosante (n° 20')
- 2 syndromes de Fiessinger-Leroy-Reiter (n°2I', 22')
- 1 périarthrite scapulo humérale (n° 23')
- 1 périostite syphilitique (n° 24')
- 1 maladie de Paget (n° 25')
- 1 ostéonécrose des 2 têtes fémorales (n°26')
- 1 syndrome de Wissler Fanconi de l'adulte (n°27')

3 - II des 27 sujets porteurs d'affections diverses ont en outre subi un test de migration leucocytaire en présence d'extrait aqueux de péricarde et de foie à la concentration de 50 µg/ml

9 d'entre eux avaient un T.M.L. négatif en présence de synoviale, et n'ont pas vu la migration de leur leucocytes être davantage inhibée par les extraits péricardiques et hépatiques. (n° I6', I8', I9', 20', 2I', 22', 23', 24', 27',).

La Chondrocalcinose (n°4') qui avait un T.M.L. positif en présence de synoviale, avait un T.M.L. négatif en présence d'extrait hépatique (l'extrait péricardique n'a pas été testé).

Au contraire, la Goutte (n° 3'), franchement inhibée par la synoviale, l'est aussi par le foie et par le péricarde.

Ces résultats sont trop fragmentaires pour donner lieu à une interprétation. Le cas de la goutte nous semble cependant intéressant à considérer, invitant à rechercher dans cette affection un état d'hypersensibilité vis à vis de plusieurs tissus.

3.2.2. Les résultats des réactions intra-dermiques ont été constamment négatifs.

- aussi bien dans les I5 cas de polyarthrite rhumatoïde que chez les 2 sujets ne présentant pas de polyarthrite rhumatoide.

- aussi bien en utilisant l'extrait de synoviale rhumatoïde qu'avec l'extrait de synoviale saine.

3.2.3. Les résultats des tests de transformation lymphoblastique ont été constamment négatifs eux aussi dans les 11 cas de polyarthrites rhumatoïdes testées, aussi bien en présence d'extrait de synoviale rhumatoide qu'avec l'extrait de synoviale normale.

TML	9 SUJETS SAINS	
	33 POLYARTHRITES RHUMATOIDES	26 séro +
		7 séro -
	27 SUJETS ATTEINTS D'AFFECTIONS DIVERSES	12 lombo-sciatiques 2 syndrome de Reiter 2 néoplasies 2 polyarthrites psoriasiques 1 périarthrite scapulo-humérale 1 spondylarthrite ankylosante 1 périostite syphilitique 1 goutte 1 chondrocalcinose articulaire 1 échinococcose osseuse 1 maladie de Paget 1 ostéonécrose des têtes fémorales 1 syndrome de Wissler-Fanconi
IDR	15 POLYARTHRITES RHUMATOIDES	12 séro +
		3 séro -
	2 AFFECTIONS DIVERSES	1 spondylarthrite ankylosante 1 arthrite septique du genou
TTL	11 POLYARTHRITES RHUMATOIDES	

TABLEAU : N° 1 : CHOIX DES SUJETS

NOMS	AGE	SYNOVIALE NORMALE			SYNOVIALE P.R.			RESULTAT
		50 µg/ml	25 µg/ml	12,5 µg/ml	50 µg/ml	25 µg/ml	12,5 µg/ml	
Mle GRE..	19 ans	1,01	0,92	0,82	1,32	0,74	0,79	-
Mr. SAM..	21 ans	1,42	1,12	1,11	1,00		0,59	-
Mle SER..	22 ans	0,92	0,87	0,87				-
Mr. LEM..	22 ans	1,41	0,73	0,87	1,10	1,11	1,22	-
Mle BAR..	24 ans	1,65	1,07	2,57	2,28	1,84	1,34	-
Mr. MAB..	24 ans	1,64	1,22		1,25			-
Mr. MAN..	25 ans	1,11	0,83	0,78	0,70	0,66	0,8	-
Mme ALC..	31 ans	2,45	1,17	1,11	1,26	1,14	0,83	-
Mr. ALC..	31 ans	1,55	0,90	1,31	1,25	1,25	1,34	-

TABLEAU : N° 2

T.M.L. CHEZ 9 SUJETS SAINS

OMS	N° DOSSIERS	SEROLOGIE	SYNOVIALE NORMALE 50	25	12,5	SYNOVIALE P.R. 50	25	12,5	RESULTAT TML SYNOVIALE	FOIE 50	PERICARDE 50
WIL..	19.591	+	0,54	0,71	0,67	0,51	0,45	0,58	+		
GUI..	19.912	+	0,40			0,35			+	0,52	0,69
AVE..	5.940	+	0,80			0,55			+		
POL..	7.855	+	0,55	0,48	0,49	0,23	0,42	0,38	+		
TFI..	19.563	+	0,60	0,35	0,40	0,64	0,40	0,23	+		
LUC..	16.899	+	0,30	0,34	0,56	0,41	0,54	0,59	+		
MUR..	16.316	+	0,67	0,41	0,73	0,80	0,65	0,73	+		
KOV..	13.364	+	0,75	1,00	0,62	0,74	0,93	0,66	+	1,30	0,89
FRA..	18.155	+	0,27	0,27	0,23	0,26	0,18	0,25	+		
COU..	19.720	+	0,62	1,16	0,93	0,76	0,29	0,30	+		
GAB..	17.008	+	0,50	0,54	0,41	0,60		0,42	+		
BAR..	19.841	+	0,43			0,60			+	0,57	0,39
DUR..	19.538	+	0,28	0,26	0,26	0,30	0,28	0,26	+		
LIT..	19.589	+	0,28	0,34	0,29	0,30	0,36	0,32	+		
COU..	19.503	+	0,40	0,42	0,35	0,46	0,36	0,38	+		
CAR..	16.572	+	1,04	0,93	0,78	1,12			-		
MEZ..	19.731	+	0,94	0,81	0,92	0,73	0,73	0,81	-		
BAS..	17.641	+	1,34	1,31	0,87	1,53	1,05	0,86	-	0,93	0,98
MOR..	19.664	+	0,91	0,81	0,73	0,76	0,66	0,89	-		
EST..	19.868	+	1,11	0,89	0,92	0,93	0,89	0,92	-	1,20	1,11
VAR..	19.722	+	0,81	0,83	0,89	0,98	0,34	0,33	-		
LEP..	19.268	+	1,15	1,21	1,17	1,03	0,72	1,39	-	1,09	1,28
CHR..	9.058	+	1,84	1,01	0,79	1,67	1,05	1,64	-		
MOR..	17.597	+		0,90			0,81	1,00	-	1,09	0,79
GAR..	17.695	+	0,87	0,93	0,54	0,62	0,97	1,24	-	0,54	0,87
HUS..	17.418	+	1,58	1,35	1,17	0,97	0,90	1,01	-	1,46	0,65
MAR..	12.469	-	0,18	0,26	0,19	0,16	1,10	1,02	+	1,8	0,86
BLO..	19.717	-	0,83	0,80	0,59	0,77	0,47	0,45	+		
DOR..	14.495	-	0,78	0,44	0,34	0,54	0,26	0,17	+		
SIE..	19.754	-	0,54	0,47	0,57	0,66	0,50	0,43	+		
BER..	19.916	-	0,85			0,84			-	0,76	0,77
CHA..	15.799	-	1,10	0,85	0,93	0,84	0,87		-	1,05	0,65
BEL..	7.390	-	1,07	0,96	0,91	0,81	0,70	0,98	-		

TABLEAU : N° 3

T.M.L. DANS 33 CAS DE P.R.

1) - EN PRESENCE DE SYNOVIALE NORMALE = 28 sujets par dose

D O S E	50 g/ml	25 g/ml	12,5 g/ml
Indice de migration m ± S	0,78 ± 0,40	0,72 ± 0,33	0,65 ± 0,28
Comparaison entre doses	$F^{1}_{54} = 0,39$ N.S.		
	$F^{1}_{54} = 2,04$ N.S.		

2) - EN PRESENCE DE SYNOVIALE DE POLYARTHRITE = 25 sujets par dose

D O S E	50 g/ml	25 g/ml	12,5 g/ml
Indice de migration m ± S	0,75 ± 0,35	0,59 ± 0,27	0,64 ± 0,36
Comparaison entre doses	$F^{1}_{48} = 3,27$ N.S.		
	$F^{1}_{48} = 1,06$ N.S.		

TABLEAU : N°6

RECHERCHE STATISTIQUE D'UN EFFET DOSE DANS LES POLYARTHRITES RHUMATOIDES

NOMS	N° DOSSIERS	DIAGNOSTIC	AGE	L WR	ROSETTE	TML SYNOV.	TML FOIE	TML PERICARDE
Mme BAS..	17.641	P.R.	43	+	4,9 ‰	-	-	-
Mme EST..	19.868	P.R.	51	+	4 ‰	-	-	-
Mme LEP..	19.268	P.R.	57	+	38 ‰	-	-	-
Mme KOV..	13.364	P.R.	65	+	11,5 ‰	+	-	-
Mme MOR..	17.597	P.R.	68	+	6 ‰	-	-	-
Mle GAR..	17.695	P.R.	72	+	> 20 ‰	-	+	-
Mme HUS..	17.418	P.R.	76	+	4 ‰	-	-	+
Mme GUI..	19.912	P.R.	42	+		+	+	+
Mme BAR..	19.841	P.R.	69	+	4 ‰	+	+	+
Mme BER..	19.916	P.R.	37	-		-	-	-
Mr. MAR..	12.469	P.R.	38	-		+		-
Mme CHA..	15.799	P.R.	50	-	11 ‰	-	-	+
Mr. GEA..	19.774	Sciatique	28			-	-	-
Mr. BOU..	19.829	Sciatique	39			-	-	-
Mme COR..	19.843	Sciatique	47			-	-	-
Mr. VER..	19.859	Goutte	49	-		+	+	+
Mme VAL..	13.432	Chondro-calcinose	68	-		+	-	
Mr. BAM..	19.857	Reiter	23	-	73 ‰	-	-	-
Mr. FON..	19.775	Reiter	18	-	7 ‰	-	-	-
Mr. BER..	19.740	Sp. A.	42	-	4,2 ‰	-		-
Mme FAE..	19.811	Périostite syph.	59			-	-	-
Mme PIL..	19.845	P.S.H.	43	-		-	-	-
Mr. MAT..	19.797	Wissler Fanconi	31	-	27 ‰	-	-	-

TABLEAU : N° 7

T.M.L. EN PRESENCE D'EXTRAITS HEPATIQUE ET PERICARDIQUE

REPARTITION	NOMBRE	RESULTATS +	RESULTATS -
Polyarthrites psoriasiques	2	1	1
Goutte	1	1	
Chondrocalcinose	1	1	
Echinococcose osseuse	1	1	
Néoplasmes	2	2	
Lombosciatiques	12	4	8
Spondylarthrite ankylosante	1		1
Reiter	2		2
Périarthrite scapulo-humérale	1		1
Périostite syphilitique	1		1
Paget	1		1
Ostéonécrose de la tête fémorale	1		1
Wissler Fanconi	1		1
TOTAL	27	10 = 37 %	17 = 63 %

TABLEAU : N° 8

T.M.L. EN PRESENCE D'EXTRAITS SYNOVIAUX

Résultats dans 27 cas d'affections diverses

NOMS	N° DOSSIERS	DIAGNOSTIC	SYNOVIALE NORMALE 50	25	12,5	SYNOVIALE P.R. 50	25	12,5	RESULTAT TML SYNOVIALE	FOIE 50	PERICARDE 50
me BOV..	18.184	Rhumatisme psoriasique + nodule rhumatoïde	0,66	0,53	0,53	0,60	0,28	0,25	+		
r. IHA..	19.011	Rhumatisme psoriasique	1,52	1,47	1,71	1,55	0,77	0,75	-		
r. VER..	19.859	Goutte	0,77	0,55	0,50	0,45	0,44	0,57	+	0,53	0,68
me VAL..	13.432	Chondrocalcinose	0,87	0,61	0,78	0,66	0,64	0,67	+	0,86	
r. PER..	18.879	Métastases - origine ?	0,52	0,46	0,28	0,63	0,39	0,38	+		
r. BEL..	19.513	Néo. vésicale métastases osseuses	0,75	0,48		0,74	0,21	0,30	+		
r. BEL..	19.547	Echinococcose osseuse	0,54	0,14	0,33	0,53	0,46	0,23	+		
. ATO..	19.594	Sciatique	1,03	0,31	0,39	0,68	0,33	0,32	+		
. DEM..	19.611	Lombalgie	0,81	0,51	0,59	0,80	0,50	0,30	+		
ie MOR..	19.645	Lombalgie	0,41	0,44	0,40	0,39	0,28	0,32	+		
. FON..	19.601	Sciatique	0,56	0,73	0,50	0,38	0,44	0,32	+		
. ZRI..	19.634	Lombalgie	2,02	1	1,43	1,09	1	1,47	-		
e BEG..	18.286	Sciatique	1,43		0,80	0,78	0,60	1,21	-		
e STE..	19.537	Sciatique	1,46	0,61	1,55	0,55	1,06	0,84	-		
e SIM..	9.097	Hernie discale synd. inflammatoire X	1,24	1,27	1,07	1,27	0,90	1,01	-		
. GEA..	19.774	Sciatique	0,84	0,81	0,80	1,09	0,79	0,85	-	1,03	0,91
. MAL..	19.579	Sciatique	0,85	1,01	0,76	0,74	0,78	0,79	-		
e COR..	19.843	Sciatique	0,80	0,89	0,79	0,92	1,06	1,07	-	0,98	0,88
BOU..	19.829	Sciatique	0,80	0,98	0,84	0,81	0,73	0,80	-	0,98	0,78
BER..	19.740	Sp.A.	0,88	0,96	1,02	0,83	0,92	1,19	-	1,34	1,08
BAM..	19.857	Reiter	0,52	0,65	0,79	0,94	1,26	0,96	-	1,05	1,49
FON..	19.775	Reiter	0,85	0,88	0,76	0,68	0,65	1,38	-	0,86	0,86
PIC..	19.845	P.SH.	0,90	0,87	0,75	0,77	0,67	0,56	-	0,82	0,84
FAE..	19.811	Périostite syph.	1,70	1,70	1,03	1,27	1,27	1,55	-	1,32	1,09
LEG..	19.840	Paget	0,81	0,76	1,3	0,91	0,55	0,47	-		
TOR..	19.479	Ostéonécrose bilat.	1,03	2,18	0,85	1,14	0,74	0,83	-		
MAT..	19.797	Wissler Fanconi	0,94	1,04	1,04	1,08	0,98	0,97	-	0,99	1,01

TABLEAU : N° 9

T.M.L. CHEZ 27 SUJETS ATTEINTS D'AFFECTIONS DIVERSES

OBS.	NOMS	N° DOSSIERS	TML	AGE	DUREE d'EVOL.	STEIN-BROCKER	NODULES	Destr. RADIO.	VS 1h	NFS	L	WR	ROSETTES	FAN	c. LE	TRAITEMENT lors du TML
1'	Mme BOV..	18.184	+	50	3 ans	IV	nodule rhumat. typique	4	40	G.B. 3.000	0	0	3 %. 15 %. 6,1 %.	0	0	Chlorambucil depuis 6 mois Corticoïdes
2'	Mr. IHA..	19.011	-	43	1an1/2	II	0	1	20	N	0	0	>30 %.	0	0	Antalgiques

TABLEAU : N° 10

T.M.L. DANS 2 CAS DE POLYARTHRITES PSORIASIQUES

3'	Mr. VER.. 19.859	Goutte	++	49	3	N	0	0						Colcnicine
4'	Mme VAL.. 13.432	Chondrocalcinose	+	68	17		0	0						
5'	Mr. PER.. 18.879	Métastases multiples origine ?	+	45	35	N	0	0		0	0			Corticoïdes Salicylés
6'	Mr. BEL.. 19.513	Néo. vessie Métastases osseuses	+	69	30	10.500 G.B.								Antalgique
7'	Mr. BEL.. 19.547	Echinococcose osseuse	++	41	14	400 éosino/mm3								
20'	Mr. BER.. 19.740	Sp.A.	-	42	27	N	0	0	4,2 %.	0	0	50 %		Corticoïdes
21'	Mr. BAM.. 19.857	Reiter	-	23	70	anémie inflam.	0	0	73 %.	0	0	31,2%		Pyrazolé Indométacine
22'	Mr. FON.. 19.775	Reiter ?	-	18	20	N	0	0	7 %.	0	0	2,5%		Indométacine
23'	Mme PIL.. 19.845	PSH bilatérale	-	43	21	N	0	0		0	0			Pyrazolé
24'	Mme FAE.. 19.811	Périostite syphilitique	-	59	3	N								
25'	Mme LEG.. 19.840	Paget	-	67	17	N	0	0						Salicylés T.C.T.
26'	Mr. TOR.. 19.479	Ostéonécrose des têtes fémorales	-	55	7	N								
27'	Mr. MAT.. 19.797	Wissler-Fanconi	-	31	107	Anémie inflam. Polynucl.+++	0	0	27 %.	0	0	34,5%		A.P.S.

TABLEAU : N° 11 - *RESULTATS DES T.M.L. EN PRESENCE D'EXTRAITS SYNOVIAUX DANS DIVERSES AFFECTIONS EN DEHORS DES POLYARTHRITES PSORIASIQUES ET DES LOMBO-SCIATIQUES*

OBS.	NOMS et N° DOSSIERS	TML	AGES	VS	γ GLOB. g/l	N.F.S.	DUREE - EVOLUTION	TRAITEMENT lors du T.M.L.
8'	Mr. ATO.. 19.594	+	32	N		N	1 an	pyrazolés corticoïdes salicylés
11'	Mr. FON.. 19.601	+	45	N		N	11 ans	pyrazolés corticoïdes
10'	Mme MOR.. 19.645	+	46	N		N	plusieurs années	neuro sédatifs
9'	Mr. DEM.. 19.611	+	61	N	12	N	plusieurs années	antalgiques théophylline
16'	Mr. GEA.. 19.774	-	28	N		10.900 G.B	3 semaines	corticoïdes pyrazolés
19'	Mr. BOU.. 19.829	-	39	N		N	qq. semaines	salicylés neuro sédatifs
17'	Mr. MAL.. 19.579	-	40	N		N	6 ans	corticoïdes indométacine pyrazolés
12'	Mr. ZRI.. 19.634	-	43	N		polyglob. resp.	8 mois	neuro sédatifs antidépresseurs
18'	Mme COR.. 19.843	-	47	N		N	4 ans	corticoïdes pyrazolés
15'	Mme SIM.. 9.097	-	56	50	8	N	11 ans	salicylés
14'	Mme STE.. 19.537	-	57	N	12	N	4 mois	opérée 8 jours avant TML
13'	Mme BEG.. 18.286	-	73	N	14	N	11 mois	0

TABLEAU : N° 12

T.M.L. A L'EXTRAIT SYNOVIAL DANS 12 CAS DE LOMBO-SCIATIQUE

AFFECTIONS TESTEES	NOMBRE	REPARTITION	NOMBRE	RESULTATS +	RESULTATS -
SUJETS SAINS	9				9 = 100 %
POLYARTHRITES RHUMATOIDES	33	SERO +	26	15 = 58 %	11 = 42 %
		SERO -	7	4 = 57 %	3 = 43 %
AFFECTIONS DIVERSES	27	Polyarthrites psoriasiques	2	1	1
		Goutte	1	1	
		Chondrocalcinose	1	1	
		Néoplasies	2	2	
		Echinococcose osseuse	1	1	
		Lombo-sciatiques	12	4	8
		Sp. A.	1		1
		Synd. de Reiter	2		2
		P.S.H.	1		1
		Périostite syphilitique	1		1
		Paget	1		1
		Ostéonécrose des têtes fémorales	1		1
		Wissler-Fanconi	1		1
		T O T A L	27	10 = 37 %	17 = 63 %

TABLEAU : N° 13

T.M.L. AUX EXTRAITS SYNOVIAUX : RESULTATS D'ENSEMBLE

OMS N° DOSSIERS	DIAGNOSTIC	PRINCIPALES CARACTERISTIQUES	DOSES	RESULTATS
BER.. 19.740	Sp.A	VS = 27 L = 0 WR = 0 c.LE=0 PAN=0	*ESN = 20 µg	-
MIR.. 19.831	Arthrite septique	VS = 3 L = 0 WR = 0 c.LE=0 PAN=0	ESN = 20 µg	-
LEP.. 19.268	P.R.	séro + rosette + TML -	ESN = 20 µg *ESR = 20 µg	- -
GAR.. 17.695	P.R.	séro + rosette + (>20%.) TML -	ESN = 20 µg ESR = 20 µg	- -
FRA.. 18.155	P.R.	séro + rosette + (20%.) TML +	ESN = 20 µg ESR = 20 µg	- -
KOV.. 13.364	P.R.	séro + rosette + (11,5 %.) TTL PHA = 40 %	ESN = 200µg ESR = 200µg	- -
QUI.. 19.197	P.R.	séro + rosette + (>50%.) TTL PHA = 24 %	ESN = 200µg ESR = 200µg	- -
EST.. 19.864	P.R.	séro + rosette + TML -	ESN = 200µg ESR = 200µg	- -
MOR.. 19.664	P.R.	séro + rosette + TML -	ESN = 20 µg ESR = 20 µg	- -
MUR.. 18.316	P.R.	séro + rosette - TML -	ESN = 20 µg ESR = 20 µg	- -
MEZ.. 19.731	P.R.	séro + rosette - TML -	ESN = 20 µg ESR = 20 µg	- -
HUS.. 17.418	P.R.	séro + rosette - TML -	ESN = 20 µg ESR = 20 µg	- -
MAI.. 19.621	P.R.	séro + rosette - (2%.) TTL PHA = 2,5 %	ESN = 20 µg ESR = 20 µg	- -
BAR.. 19.841	P.R.	séro + rosette - (4%.)	ESN = 200µg ESR = 200µg	- -
SIE.. 19.754	P.R.	séro - rosette - TML +	ESN = 20 µg ESR = 20 µg	- -
CHA.. 15.799	P.R.	séro - rosette + (11%.) TML -	ESN = 20 µg ESR = 20 µg	- -
LON.. 19.810	P.R.	séro - rosette - (5,3%.)	ESN = 200µg ESR = 200µg	- -

TABLEAU : N° 14 - INTRA-DERMO-REACTION AUX EXTRAITS SYNOVIAUX

= *Extrait de Synoviale Normale*
= *Extrait de Synoviale Rhumatoïde*

NOMS	N° DOSSIERS	RESULTATS		TTL PHA	TRAITEMENT
		SYNOVIALE NORMALE	SYNOVIALE P.R.		
Mme POL..	7.855	0 %	0 %	100 %	Corticoïdes
Mme AVE..	5.940	0 %	0 %	51 %	Corticoïdes
Mme FRA..	18.155	0 %	0 %	57 %	Corticoïdes
Mme MAI..	14.708	0 %	0 %	56 %	Corticoïdes
Mme FAU..	14.483	0 %	0 %	60 %	Corticoïdes
Mr. BLE..	19.258	0 %	0 %	79 %	Anti-inflammatoires
Mr. MER..	19.429	0 %	0 %	7,5 %	Salicylate
Mr. BAU..	19.068	0 %	0 %	74 %	
Mle POS..	19.514	0 %	0 %	97 %	Corticoïdes Chlorambucil
Mme PET..	16.910	0 %	0 %	49 %	Chlorambucil
Mme DOR..	14.495	0 %	0 %	6 %	Chlorambucil

TABLEAU : N° 15

T.T.L. CHEZ LES SUJETS ATTEINTS DE P.R.

EN PRESENCE D'ANTIGENE SYNOVIAL

3.3. DISCUSSION

3.3.1. Si, dans la série témoin, le T.M.L. a été constamment négatif, chez les Polyarthrites Rhumatoïdes, le test a été positif dans 58 % des cas. Ceci permet de dire que le T.M.L. utilisant comme antigène les extraits de synoviale peut servir comme test complémentaire au diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde.

Une seule remarque à faire en ce qui concerne le choix de nos sujets : la tranche d'âge des témoins sains n'est pas la même que celle des polyarthrites rhumatoïdes, les premiers étant tous des sujets jeunes, tandis que les polyarthrites se répartissent entre 21 et 75 ans.

On peut certes faire remarquer que (si l'on admet que le T.M.L. est bien un test immunitaire), la tranche d'âge des témoins sains est celle où précisément la réactivité immunitaire est la plus forte. Cependant, les phénomènes d'auto-immunisation, et en particulier les auto-anticorps, sont décelés avec une plus grande fréquence chez les sujets âgés, comme l'atteste l'augmentation de fréquence avec l'âge de la positivité du test au latex et de la réaction de Waaler-Rose chez des sujets indemnes de polyarthrite rhumatoïde.

3.3.2.. Le T.M.L. chez les porteurs d'autres affections rhumatologiques est positif dans 37 % des cas : Goutte, Chondrocalcinose, Néoplasie, Polyarthrite psoriasique, Lombo-sciatique.

La comparaison de ce groupe et du groupe de polyarthrites rhumatoïdes montre cependant une différence significative ($p < 0,02$) ce qui apporte un argument supplémentaire à la valeur du test.

Il faut noter aussi que dans ce groupe, l'on trouve fréquemment une sérologie et un test des rosettes positifs.

3.3.3.) Nous avons utilisé des extraits de synoviale (normale ou pathologique) dans l'hypothèse d'un conflit immunologique organotypique. Nous n'avons pas trouvé une différence entre la réponse à un extrait pathologique et la réponse à l'extrait normal, ce qui nous permet de conclure à l'existence d'un antigène commun aux deux préparations.

Il faut noter cependant que dans 6 cas de Polyarthrites Rhumatoïdes, le T.M.L. était positif seulement vis à vis de la synoviale rhumatoïde ; aucune polyarthrite rhumatoïde n'avait, à l'inverse, un T.M.L. positif uniquement en présence de synoviale saine.

Comme nous l'avons vu, et en appliquant une technique et des critères très rigoureux, le test a été positif seulement dans 58 % des cas. Il est possible que la fréquence des cas positifs soit plus forte avec une série de malades plus grande. Cependant, la négativité des autres cas nous permet d'envisager les hypothèses suivantes :

1) - l'antigène spécifique n'est pas utilisé à concentration suffisante pour inhiber les leucocytes de <u>toutes</u> les polyarthrites rhumatoïdes. Il faut donc faire des essais de concentration de l'extrait. Mais l'existence, à de fortes concentrations, d'une inhibition non spécifique, oblige en fait à purifier l'extrait avant de le concentrer, pour

ne garder que la fraction antigénique.
2) - la synoviale contient plusieurs antigènes qui ne sont pas tous extractibles par notre méthode. Certaines polyarthrites peuvent ne présenter une hypersensibilité que vis-à-vis des antigènes qui précisément ne sont pas extraits, ce qui explique la négativité du T.M.L. dans ces cas. Il pourrait s'agir d'antigènes non hydrosolubles, particulaires ou non.

Il serait souhaitable de vérifier cette éventualité en faisant soit des extractions avec divers solvants, soit une suspension aqueuse de broyat de synoviale totale.

3.3.4. Ce test, comme le test des rosettes, semble positif dans les polyarthrites rhumatoïdes séro-négatives aussi souvent que dans les polyarthrites rhumatoïdes séro-positives, et permet comme lui une tentative d'unification de la maladie.

Cependant cette tentative est d'emblée un échec puisqu'une proportion importante de polyarthrites ne répond pas au T.M.L. On obtient alors, de même que des polyarthrites rhumatoïdes séro-positives et séro-négatives, des polyarthrites rhumatoïdes rosettes positives ou rosettes négatives, des polyarthrites T.M.L. positives et T.M.L. négatives, sans qu'on puisse établir la moindre relation entre la positivité de ces trois tests (les polyarthrites rhumatoïdes positives dans un système, ne sont pas forcément les polyarthrites rhumatoïdes positives dans un autre système).

Mais cette absence de relation est ici un avantage, puisque si chaque test a bien une valeur diagnostique, une polyarthrite rhumatoïde qui échappe à deux tests a des chances d'être décelée par le troisième. Ainsi les cas, 29 et 30 séro-négatives et rosettes rhumatoïdes négatives sont T.M.L. positifs. A l'inverse, les cas 32', 33' séro-négatifs et T.M.L. négatifs sont R.R. positifs.

Il est rare en tous cas, qu'un test biologique spécifique ou non d'une affection soit retrouvé positif dans IOO % des cas de cette affection. Rappelons, par exemple, que le facteur rhumatoïde est retrouvé dans 80 % des cas de polyarthrite rhumatoïde, la rosette rhumatoïde dans 65 à 69 % des cas (F. DELRIEU).

3.3.5. Spécificité du test

La moitié environ des polyarthrites dont le T.M.L. est positif en présence d'extrait synovial, ont aussi un T.M.L. positif en présence d'un extrait péricardique et hépatique.

Dès lors, on ne peut plus dire que la polyarthrite rhumatoïde est une maladie organospécifique, du moins sur le plan biologique. La polyarthrite rhumatoïde est connue pour léser essentiellement la synoviale et le cartilage. Les autres points d'impact de la maladie (vaisseaux, poumon, ...) sont beaucoup plus contingents. On a cependant décrit des péricardites rhumatoides, très rares à la vérité, mais qui ne sont pas pour surprendre quand on connait l'origine embryologique commune de la synoviale et du péricarde (séreuses). Les manifestations hépatiques spécifiques sont par contre inconnues. Est-ce à dire que la polyarthrite rhumatoide est considérée jusqu'alors comme une maladie organospécifique ? Non, puisqu'on connaît l'existence fréquente de facteurs antinucléaires, et puisque le facteur rhumatoïde lui-même n'est pas un anticorps organospécifique.

Cependant, si nos résultats étaient confirmés, ils apporteraient dans cette maladie, la notion d'une hypersensibilité de type cellulaire dirigée contre d'autres tissus que la synoviale.

3.3.6. Le test est positif, dans une proportion certes nettement plus faible, dans d'autres affections.

Cette constatation nous amène à remettre en doute la nature immunologique du phénomène d'inhibition puisqu'on la retrouve dans des affections apparemment non immunes :

- goutte
- chondrocalcinose
- échinococcose
- néoplasies

Cependant, rien n'exclut la possibilité de phénomènes immuns secondaires, au cours d'affections dont le primum movens n'est pas un conflit immunologique.

3.3.7. La positivité du T.M.L. contraste avec la négativité constante des réactions cutanées et des T.T.L. en présence du même antigène.

C'est à notre avis la principale objection à l'encontre du caractère immunologique des résultats obtenus.

On sait en effet que, encore à l'heure actuelle, la plupart des immunologistes comparent leurs résultats en T.M.L. à ceux des réactions cutanées pour pouvoir affirmer que les inhibitions obtenues sont probablement immunologiques.

Le T.T.L., bien qu'il prête à plusieurs critiques :

- négativé par corticothérapie
- positif par excès (mitogènes aspécifiques)
- positif par anticorps circulants et par complexes immuns circulants

a cependant lui aussi valeur de référence.

Il peut donc sembler, à priori, que les résultats positifs obtenus chez nos malades avec le T.M.L. ne sont pas la traduction d'un phénomène immunologique.

Cependant, il faut remarquer qu'il existe expérimentalement un parallélisme entre les réactions intra-dermiques, la transformation blastique et l'inhibition de la migration lorsqu'on étudie les réactions cellulaires à un immunogène très puissant. Et dans ce cas, les réactions cellulaires sont très importantes.

Lorsque l'on travaille avec des immunogènes faibles comme c'est le cas pour des antigènes tissulaires et dans les maladies auto-immunes, il est probable que l'hypersensibilité cellulaire est moins évidente et qu'il n'existe pas un parallélisme net entre les tests cutanés et les tests in vitro.

En effet, tandis que l'injection intra-dermique d'antigène provoque une réaction locale lorsque le sujet présente un état d'hypersensibilité évident, il est possible que les conditions de la réaction in vitro dans le cas du T.M.L. :

- concentration importante de cellules probablement sensibilisées
- grande quantité d'antigène,

expliquent que dans certains cas, le T.M.L. soit positif alors que les réactions intra-dermiques sont négatives.

Nous retiendrons de cette discussion que les résultats du T.M.L. en présence d'extraits synoviaux vont dans le sens d'un conflit immunologique de type cellulaire dans la polyarthrite rhumatoïde, sans qu'on puisse affirmer que ce conflit résume la pathogénie de l'affection.

Ce conflit semble intéresser le tissu synovial. Cependant, les quelques tests faits avec d'autres extraits tissulaires (foie, péricarde) laissent penser que l'hypersensibilité des polyarthrites rhumatoïdes ne concerne pas que le tissu synovial. Celui-ci n'est peut-être qu'une

des cibles du conflit immunologique humoral et cellulaire présent dans cette affection, et rien ne permet de dire que c'est le seul tissu intéressé.

Il faut donc à notre avis, concevoir actuellement la polyarthrite rhumatoïde comme une affection dans laquelle le conflit immunologique déborde largement le cadre du tissu synovial. Dans la mesure où le primum movens du conflit n'est pas élucidé, il n'est pas improbable que les différentes composantes immunologiques ne soient que les résultantes d'une agression par exemple virale, dont l'approche peut se faire par deux voies :

- soit l'étude virologique,
- soit les recherches immunologiques afin d'isoler plus précisément la fraction immunogène en cause.

4 - CONCLUSIONS

La recherche, dans 33 cas de polyarthrite rhumatoïde, d'une hypersensibilité de type retardé vis-à-vis d'extraits aqueux de synoviale par le test de migration leucocytaire en un temps (technique de Soborg et Bendixen) s'est avérée positive dans 60 % des cas, aussi bien dans les polyarthrites séronégatives que dans les polyarthrites séropositives. La réponse est identique vis-à-vis de la synoviale saine et de la synoviale rhumatoïde. Aucune corrélation ne peut être établie entre le résultat du test de migration leucocytaire et les caractères cliniques, radiologiques, biologiques et histologiques de la polyarthrite rhumatoïde, non plus qu'avec le test de transformation lymphoblastique en présence de phyto-hémagglutinine. Le traitement ne semble pas influer sur le test de migration leucocytaire qui s'avère totalement indépendant de l'existence d'une cortico-thérapie.

Les tests ont été pratiqués chez 9 témoins sains qui ont tous répondu négativement.

Le test peut aussi être positif dans diverses affections rhumatismales en dehors de la polyarthrite rhumatoïde. Une explication définitive ne peut être fournie à ce fait.

La recherche d'une hypersensibilité retardée vis-à-vis des mêmes extraits par les réactions intradermiques dans I5 cas de polyarthrite rhumatoïde et par le test de transformation lymphoblastique dans I0 cas de polyarthrite rhumatoïde s'est avérée constamment négative.

Il faut noter que 2 sur 4 polyarthrites rhumatoïdes ayant un test positif avec les extraits synoviaux, donnent un test positif

également avec l'extrait péricardique et l'extrait hépatique, ce qui laisse supposer la présence d'un antigène commun dans ces quatre préparations.

Ainsi, le test de migration leucocytaire nous semble pouvoir constituer un appoint diagnostique dans 58 % des cas de polyarthrite rhumatoïde, qui peut être utile quand la sérologie rhumatoïde et le test des rosettes sont négatifs.

Sa signification pathogénique dans le cadre de la maladie prête à discussion :

1°) - Si on admet l'existence dans la polyarthrite rhumatoïde d'un conflit immunologique de type auto-immun retardé, intéressant la synoviale, on ne peut expliquer pourquoi le test est positif seulement dans 58 % des cas en utilisant comme antigène l'extrait aqueux de synoviale totale ; d'autre part, le test de migration leucocytaire n'est pas en corrélation avec les autres tests d'hypersensibilité retardée (réaction intradermique, test de transformationlymphoblastique).

Plusieurs hypothèses sont à envisager pour expliquer ces discordances

a) - l'antigène spécifique n'est pas utilisé à concentration suffisante ; en purifiant et en concentrant l'extrait, la fréquence des résultats positifs pourrait se trouver augmentée.

b) - l'extrait utilisé ne contient pas l'antigène spécifique il peut s'agir, en effet, d'un antigène non hydrosoluble (particulaire ou non).

2°) - Enfin, la non spécificité du test pour la polyarthrite rhumatoïde pose le problème de la nature réelle du phénomène est-elle vraiment immunologique ? On serait tenté de répondre par la négative devant :

- sa positivité dans des affections apparemment non immunes (goutte, chondrocalcinose, échinococcose, néoplasies, etc...)

- la discordance avec les autres tests d'hypersensibilité retardée (réaction intradermique, test de transformation lymphoblastique).

L'orientation des travaux à venir nous semble devoir être la recherche et l'isolement d'autres fractions antigéniques de la synoviale et l'utilisation éventuelle d'une technique en deux temps de mise en évidence d'une inhibition de la migration.

Vu le Président de Thèse

Pr. F. DELBARRE

Vu le Doyen de la Faculté

Pr. F. DELBARRE

Vu, et Permis d'Imprimer

Le Recteur de la Faculté

R. MALLET

5. - BIBLIOGRAPHIE

5. I. ..... LA PATHOGENIE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOIDE

5. 2. ..... TESTS IMMUNOLOGIQUES

5. 2. I. ..... TESTS CUTANES D'HYPERSENSIBILITE RETARDEE

5. 2. 2. ..... TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

5. 2. 3. ..... TEST DE MIGRATION LEUCOCYTAIRE

5. I. - LA PATHOGENIE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOIDE

1 - AMOR (B.),
Etat présent et à venir des virus en Rhumatologie.
"Presse Méd.", 1967; 75 : 1461.

2 - AMOR (B.),
Apport de la virologie dans la connaissance des rhumatismes inflammatoires.
"Gaz. Méd. France", 1969; 76 : 4985.

3 - AZOURY (F.J.), HESS (J.W.),
Cutaneous reactivity in rheumatic and non rheumatic diseases.
"J.A.M.A.", 1967; 201 : 357.

4 - BACH (J.F.), DELRIEU (F.), DELBARRE (F.),
Le phénomène des rosettes rhumatoïdes dans les polyarthrites chroniques évolutives. I. Nouvelle méthode de détection du Facteur Rhumatoïde au niveau cellulaire.
"Presse Méd.", 1970; 78 : 301.

5 - BARIETY (J.), AMOR (B.), KAHAN (A.), BALAFREJ (J.L.), DELBARRE (F.),
Ultrastructural anomalies in mononuclear cells of peripheral blood in S.L.E. : presence of virus-like inclusions.
"Rev. Europ. Etud. Clin. Biol.", 1971; 16 : 715.

6 - BARTFELD (H.),
Rheumatoid arthritic and non-rheumatoid synovium in cell culture. Morphological observations, acridine orange, and fluorescent fraction II studies.
"Ann. Rheum. Dis.", 1965; 24 : 31.

7 - BRANDT (K.D.), CATHCART (E.S.), COHEN (E.S.),
Studies of immune deposits in synovial membranes and corresponding synovial fluids.
"J. Lab. Clin. Med.", 1968; 72 : 631.

8 - BRAUNSTEINER (H.), EIBL (M.), FOLLINGER (K.),
Allergie vom verzögerten Typ gegenuber Gelenkextrakten bei Patienten mut primär chronischer Polyarthritis.
"Wien. Z. Inn. Med.", 1961; 42 : 530.

9 - BRAUNSTEINER (H.), DIENSTL (F.), EIBL (M.),
Destructive effect of lymph node cells from patients with rheumatoïd arthritis in tissue culture.
"Acta Haemat. Scand.", 1964; 31 : 225.

10 - CASTOR (C.W.), DORSTEWITZ (E.L.),
Abnormalities of connective tissue cells cultured from patients with rheumatoïd arthritis. I. Relative unresponsiveness of rheumatoïd synovial cells to hydrocortisone.
"J. Lab. Clin. Med.", 1966; 68 : 300.

11 - CASTOR (C.W.), ROWE (K.),
Collagen formation by rheumatoïd and non-rheumatoïd cell strains. Regulations by ascorbic acid and hydrocortisone.
"Arthritis Rheum.", 1968; 11 : 819.

12 - CECIL (R.L.), NICHOLLS (E.E.), STAINSBY (W.J.),
Characteristics of streptococci isolated from patients with rheumatic fever and chronic infectious arthritis.
"Amer. J. Path.", 1930; 6 : 619.

13 - CHOU (S.M)),
Myxovirus like structures in a case of human chronic polymyositis.
"Science", 1967; 158 : 1453.

14 - CLAESSENS (H.-I.), VEYS (E.-M.),
Taux sériques d'immunoglobulines G, M et A dans la Polyarthrite rhumatoïde.
"Rev. Rhum.", 1968; 35 : 635.

15 - COSTE (F.),
Facteurs infectieux et viraux dans les rhumatismes inflammatoires idiopathiques.
"J. Agrégés", 1970; 3 : 209.

16 - CROUZET (J.),
Contribution à l'étude de l'antigénicité du tissu conjonctif et de ses aspects cliniques.
Thèse Paris 1969.

17 - DELBARRE (F.), KAHAN (A.), AMOR (B.),
Le ragocyte synovial - Son intérêt pour le diagnostic des maladies rhumatismales.
"Presse Méd.", 1964; 72 : 2129.

18 - DELBARRE (F.), DELRIEU (F.), LE GO (A.),
Le test des rosettes rhumatoïdes dans les rhumatismes infantiles chroniques.
"Nouv. Presse Méd.", 1972; 1 : 24.

19 - DELRIEU (F.),
Les rosettes rhumatoïdes. Tentative d'unification des Polyarthrites rhumatoïdes.
Thèse Paris 1970.

20 - DELRIEU (F.), BACH (J.F.), DELBARRE (F.),
Le phénomène des rosettes rhumatoïdes (R.R.), dans les polyarthrites chroniques évolutives (P.C.E.). II. signification ; intérêt pour le diagnostic des P.C.E. séronégatives.
"Presse Méd.", 1970; 78 : 301.

21 - FOSTIROPOULOS (G.), AUSTEN (K.F.), BLOCH (K.S.),
Total hemolytic complement (CH 50) and second component of complement (C2 hu) activity in serum and synovial fluid.
"Arthritis Rheum.", 1965; 8 : 219.

22 - GOLDFISCHER (S.), SMITH (C.), HAMERMAN (D.),
Altered acid hydrolase activities in rheumatoid synovial cells in culture.
"Amer. J. Path.", 1968; 52 : 569.

23 - GRAYZEL (A.I.),
Rheumatoid cells resistant to rubella virus.
"Arthritis Rheum.", 1969; 12 : 665.

24 - GRUBB (R.), LAURRELL (A.B.),
Hereditary serological human serum groups.
"Acta Path. Microbiol. Scand.", 1956; 39 : 390.

25 - GUIRAUDON (C.),
L'Histologie de la synoviale dans les rhumatismes inflammatoires.
"Bull. Soc. Med. Hôp. Paris", 1966; 117 : 1267.

26 - GYORKEY (F.), MIN (K.W.), SINKOWICS (J.G.), GYORKEY (P.),
S.L.E. and myxovirus.
"New Eng. J. Med.", 1969; 280 : 333.

27 - GYORKEY (F.), GYORKEY (P.),
Lupus érythémateux disséminé et virus.
"Rev. Méd.", 1971; 1 : 15.

28 - GYORKEY (F.), SINKOWICS (J.G.),
Microtubules of S.L.E.
"Lancet", 1971; 1 : 131.

29 - HAMERMAN (D.), JANIS (R.), SMITH (C.),
Cartilage matrix depletion by rheumatoid synovial cells in tissue culture.
"J. Exp. Med.", 1967; 126 : 1005.

30 - HAMERMAN (D.),
Views on the pathogenesis of Rheumatoid arthritis.
"Med. Clin. N. Amer.", 1968; 52 : 593.

31 - HEDBERG (H.), NORDEN (A.), LUNDQVIST (A.), AFZELIUS (B.),
Depression of hemolytic complement activity of synovial fluid in adult rheumatoid arthritis.
"Acta Med. Scand.", 1964; 175 : 347.

32 - HOLLANDER (J.L.), McCARTY (D.J.), ASTORGA (G.), CASTRO-MURILLO (E.),
Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation :
I. The "R.A. cell" and a working hypothesis.
"Ann. Intern. Med.", 1965; 62 : 271.

33 - HOLMES (M.C.), BURNET (F.M.),
The natural history of autoimmune disease in NZB mice
"Ann. Intern. Med.", 1963; 59 : 265.

34 - JASIN (H.E.), LoSPALLUTO (J.), ZIFF (M.),
Rheumatoid hyperviscosity syndrome.
"Amer. J. Med.", 1970; 49 : 484.

35 - KAPLAN (M.H.), VAUGHAN (J.H.),
Reaction of rheumatoid sera with synovial tissue as revealed by fluorescent antibody studies
Abstract of A.R.A. in :
"Arthritis Rheum.", 1959; 2 : 356.

36 - KAPUSTA (M.A.), MENDELSON (J.),
The inhibition of adjuvant disease in rats by the interferon inducing agent Pyran copolymer
"Arthritis Rheum.", 1969; 12 : 463.

37 - KUDESKU (J.),
Virus like particles seen in the striated muscles in acroscleroderma
"Dermatologica"(Basel) , 1966; 133 : 495.

38 - LERMUSIAUX (J.L.), KUNTZ (D.), RYCKEWAERT (A.),
La réactivité cutanée immunitaire retardée au cours de la Polyarthrite rhumatoïde. Ses modifications sous traitement immuno-dépresseur
"Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.", 1969; 14 : 782.

39 - LYCETTE (R.R.), PEARMAIN (G.E.),
Lymphocyte cultures in Rheumatoid Arthritis and thyroid diseases.
"New Zeal. Med. J.", 1965; 64 : 81.

40 - MEDICAL NEWS
Viral origin for chronic diseases.
"J.A.M.A.", 1967; 204 : 33.

41 - MELLORS (R.C.), HEIMER (R.), CORCOS (J.), KORNGOLD (L.),
Cellular origin of rheumatoid factor.
"J. Exp. Med.", 1959; 110 : 875.

42 - MELLORS (R.C.), CHEN YA HUANG,
Immunopathology of NZB/BL mice
"J. Exp. Med.", 1966; 124 : 1031.

43 - MOENS (Ch.),
Culture de lymphocytes en présence de liquide synovial.
"Rev. Rhum.", 1968; 35 : 642.

44 - NORTON (W.L.), VELAYOS (E.), ROBINSON (L.),
Endothelial inclusions in dermatomyositis
"Ann. Rheum. Dis.", 1970; 29 : 67.

45 - PELTIER (A.),
Pathogénie et immunologie de la Polyarthrite Rhumatoïde p. 14.
in : Progrès en Rhumatologie.- Paris, Flammarion Edit., 1968.- 773 p.

46 - PELTIER (A.), SEZE (S. de),
Mechanism of the fall in complement level in the synovial fluid in cases of rheumatoid arthritis
"Ann. Rheum. Dis.", 1970; 29 : 690.

47 - PELTIER (A.), VIAL (M.C.), LEROY (C.), SEZE (S. de),
Etudes sur le mécanisme de la baisse du taux de complément dans le liquide synovial au cours de la Polyarthrite Rhumatoïde.
II. Démonstration d'un pouvoir anticomplémentaire anormal dans des liquides synoviaux rhumatoïdes.
"Path. Biol. (Paris)", 1970; 18 : 969.

48 - PRUNIERAS (M.), GRUPPER (Ch.), DUREPAIRE (R.), BOURGEOIS-SPINASSE (J.), EDELSON (Y.),
Inclusions dans la dermatomyosite aiguë et chronique.
"Presse Méd.", 1971; 79 : 1463.

49 - RAWSON (A.J.), ABELSON (N.M.), HOLLANDER (J.L.),
Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation.
II. Intracytoplasmic particulate complexes in rheumatoid synovial fluids.
"Ann. Intern. Med.", 1965; 62 : 281.

50 - RESTIFO (R.A.), LUSSIER (A.J.), RAWSON (A.J.), ROCKEY (J.H.), HOLLANDER (J.L.),
Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation
III. The experimental production of arthritis by the intra-articular injection of purified 7S gammaglobulin.
"Ann. Intern. Med.", 1965; 62 : 285.

51 - RODMAN (W.W.), WILLIAMS (R.C.) jr., BILKA (P.J.), MULLER-EBERHARD (H.J.),
Immunofluorescent localization of β_1C and β_1E globulin complement components in synovial tissues from rheumatoid arthritis patients.
Abstract de l'A.R.A. in :
"Arthritis Rheum.", 1964; 7 : 749.

52 - ROTHENBERGER (W.), THIELE (H.G.),
In vitro-studie zur Pathogenese der primär chronischen Polyarthritis mittels des Lymphocyten Transformations Tests
"Klin. Wschr.", 1970; 48 : 518.

53 - ROTHENBERGER (W.), THIELE (H.G.),
In vitro studie zur Pathogenese der primär-chronischen Polyarthritis mittels des Migrations-Inhibitions Tests
"Klin. Wschr.", 1970; 48 : 1308.

54 - RYCKEWAERT (A.), PELTIER (A.), LERMUSIAUX (J.L.), KUNTZ (D.),
Les réactions d'immunité retardée au cours de la Polyarthrite Rhumatoïde.
"Presse Méd.", 1970; 78 : 1307.

55 - RYCKEWAERT (A.), PELTIER (A.),
Etiopathogénie de la Polyarthrite Rhumatoïde.
"Rev. Prat.", 1971; 21 : 4102.

56 - SCHROHENLOHER (R.E.),
Characterization of the γG-Globulin complexes present in certain sera having high titers of anti-γ-Globulin activity.
Abstract de l'A.R.A. in :
"Arthritis Rheum.", 1965; 8 : 466.

57 - SERRE (H.), SIMON (L.), MANDIN (J.), SANY (J.), CLOT (J.),
Perturbations immunologiques au cours de la Polyarthrite Chronique Rhumatismale.
"Sem. Hôp. Paris", 1972; 48 : 323.

58 - SEZE (S. de), RYCKEWAERT (A.),
Pathogénie immunitaire des connectivites.
in : Maladie des os et des articulations.- Paris, Flammarion Edit., 1954. Mise à jour 1968, p. 611.

59 - SMITH (C.), GRAYZEL (A.I.), BECK (C.L.), HAMERMAN (D.),
Resistance of cultured rheumatoid synovial cells to exogenous viral infections ; Abstract 47.
XII Congressus Rheumatologicus Internationalis, Praga 1969.

60 - SOKOLOFF (L.), McCLUSKEY (R.T.), BUNIM (J.J.),
Vascularity of the early subcutaneous nodules of rheumatoid arthritis
"Arch. Path.", 1953; 55 : 475.

61 - STANFIELD (A.B.), CUBBERLEY (J.B.), PARSONS (J.L.),
In vitro study of reacted human lymphocytes in perfusion chambers.
"Ann. Allerg.", 1967; 25 : 359.

62 - SUKERNIK (R.), HANIN (A.), MOSLOV (A.),
The reaction of blood lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis against human connective tissue cells in vitro.
"Clin. Exp. Immun.", 1968; 3 : 171.

63 - VISCHER (T.L.), ZIFF (M.),
Les facteurs autoimmuns dans la Polyarthrite Rhumatoïde.
"Documenta Geigy - Acta Rheumatologica".- Bâle, J.R. Geigy, 1969.

64 - WARREN (S.L.), MARMOR (L.), LIEBES (D.M.), HOLLINS (R.L.),
Congenited transmission in mice of an active agent from human rheumatoid arthritis.
"Nature", 1969; 223 : 646.

65 - ZVAIFLER (N.J.), PEKIN (T.J.),
Complement components in synovial fluids
Abstract de l'A.R.A. in :
"Arthritis Rheum.", 1963; 6 : 308.

5. 2. - TESTS IMMUNOLOGIQUES

5. 2. 1. - TESTS CUTANES D'HYPERSENSIBILITE RETARDEE

1 - ARNASON (B.G.), WAKSMAN (B.H.),
Tuberculin sensitivity - Immunologic considerations.
"Advances Tuberc. Res.", 1964; 13 : 1.

2 - BENACERRAF (B.), GELL (P.G.H.),
Studies on delayed hypersensitivity. I. Delayed and Arthus type reactivity to protein conjugates in guinea-pigs
"Immunology", 1959; 2 : 53.

3 - CALMETTE (A.),
L'Infection bacillaire et la tuberculose.
4ème édition, Paris, Masson & Cie, 1928. 1vol., 1024 p.

4 - CHASE (M.W.),
The cellular transfer of cutaneous hypersensibility to tuberculin.
"Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 1945; 59 : 134.

5 - CHOUCROUN (N.),
Rôle joué par le lipopolysaccharide du bacille tuberculeux dans l'hypersensibilité à la tuberculine et dans l'acido résistance du bacille.
"C.R. Acad. Sci. (Paris)", 1948; 226 : 1477.

6 - DARBON (A.),
Les test cutanés.
Bruxelles, De Visscher, 1956. 1 vol.

7 - DIENES (L.), SCHOENHEIT (E.W.),
Reproduction of tuberculin hypersensitiveness in guinea-pigs with various protein substances.
"Ann. Rev. Tuberc.", 1929; 20 : 92.

8 - EILBER (F.R.), MORTON (D.L.),
Impaired immunologic reactivity and recurrence following cancer surgery.
"Cancer", 1970; 25 : 362.

9 - FREUND (J.), CASALS-ARIET (J.), GENGHOF (D.S.),
The synergistic effect of paraffin oil combined with heat-killed tubercle bacilli.
"J. Immun.", 1940; 38 : 67.

10 - GERNEZ-RIEUX (Ch.), TACQUET (A.), GERVOIS (M.), VOISIN (C.), MACQUET (V.)
Valeur théorique et pratique des réactions cutanées tuberculiniques.
XIII Congrès de la Tuberculose, 1961.

11 - KOCH (R.),
Fortsetzung der Mitteilungen über ein Heilmittelgegen Tuberkulose
"Deutsch. Med. Wschr.", 1891; 7 : 101.

12 - KOCH (R.),
Weitere Mitteilung über das Tuberkulin.
"Deutsch. Med. Wschr.", 1891; 7 : 1189.

13 - LANDSTEINER (K.), CHASE (M.W.),
Experiments on transfer of cutaneous sensitivity to simple compounds.
"Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 1942; 49 : 688.

14 - LAWRENCE (H.S.),
The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin in man.
"Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 1949; 71 : 516.

15 - LAWRENCE (H.S.),
Some biological and immunological properties of transfer factor.
in : Ciba Foundation Symposium on cellular aspects of immunity.
Londres, Churchill Edit., 1960.

16 - OLCOTT (C.T.),
The reaction to killed tubercle bacilli in normal and immunized (sensitized) rabbits.
"Amer. J. Path.", 1939; 15 : 287.

17 - PASTEUR VALLERY-RADOT, WOLFROMM (R.), CHARPIN (J.), HALPERN (B.N.),
Allergie du type retardé p. 71-93, Mise à jour 1971.
Tests cutanés p. 315-325
in : Maladies allergiques. Paris, Flammarion, 1963.

18 - RAFFEL (S.), ARNAUD (L.E.), DUKES (C.D.), HUANG (J.S.),
The rôle of the "wax" of the tubercle bacillus in establishing delayed hypersensitivity. II. Hypersensitivity to a protein antigen, egg albumin.
"J. Exp. Med.", 1949; 90 : 53.

19 - RAMSEIER (H.), BILLINGHAM (R.E.),
Studies on delayed cutaneous inflammatory reactions elicited by inoculation of homologous cells into hamsters'skins
"J. Exp. Med.", 1966; 123 : 629.

5. 2.2 - TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

1 - AMOR (B.), KAHAN (A.), LECOQ (F.), DELBARRE (F.),
Le test de transformation lymphoblastique par les antigènes bedsoniens (T.T.L. Bedsonia) - Son intérêt nosologique et diagnostique dans le syndrome Fiessinger-Leroy-Reiter.
Société de Rhumatologie, séance du 19 janvier 1972.
à paraître dans la Revue du Rhumatisme.

2 - BENEZRA (D.), GERY (I.), DAVIES (A.M.),
Transformation of rabbit lymphocytes by specific antigens.
"Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 1967; 126 : 1305.

3 - BENEZRA (D.), GERY (I.), DAVIES (A.M.),
The relationship between lymphocyte transformation and immune responses. II. Correlations between transformation and humoral and cellular immune responses.
"Clin. Exp. Immun.", 1969; 5 : 155

4 - BISSON (M.), AMOR (B.), KAHAN (A.), DELBARRE (F.),
Les manifestations articulaires de l'Aphtose (syndrome de Behcet)
"Sem. Hôp. Paris", 1971; 47 : 2023.

5 - BLOCH-SHTACHER (N.), HIRSCHHORN (K.), UHR (J.W.),
The response of lymphocytes from non-immunized humans to antigen-antibody complexes.
"Clin. Exp. Immun.", 1968; 3 : 889.

6 - BONTOUX (D.), KAHAN (A.), BROUILHET (H.), AMOR (B.), DELBARRE (F.), JOUANNEAU (M.), GNIAZDOWSKA (E.),
Effect and mode of action of chlorambucil in Rheumatoid Arthritis The importance of the lymphoblast transformation test.
"Rev. Europ. Etud. Clin. Biol.", 1971; 16 : 166.

7 - CROUZET (J.), GUILLIEN (P.), CAMUS (J.-P.),
Le test de transformation lymphoblastique en présence d'A.D.N. dans la polyarthrite rhumatoïde.
"Rev. Rhum.", 1971; 38 : 435.

8 - DELBARRE (F.), POMPIDOU (A.), KAHAN (A.), BROUILHET (H.), LE GO (A.), AMOR (B.),
Etude des lymphocytes du sang au cours de la maladie lupique.
"Path. Biol. (Paris)", 1971; 19 : 379.

9 - GELL (P.G.H.), SELL (S.),
Studies on rabbit lymphocytes in vitro. II. Induction of blast transformation with antisera to six IgG allotypes and summation with mixtures of antisera to different allotypes.
"J. Exp. Med.", 1965; 122 : 813.

10 - GERY (I.), BENEZRA (D.), DAVIES (A.M.),
The relationship between lymphocyte transformation and immune response I. Ratio of transforming cells to antibody forming cells.
"Immunology", 1969; 16 : 381.

11 - HALPERN (B.), KY (N.T.), AMACHE (N.), HALPERN (G.),
Le test de transformation lymphoblastique et ses applications actuelles.
"Méd. Intern.", 1969; 4 : 151.

12 - HERSH (E.M.), HARRIS (J.E.),
Macrophage-lymphocyte interaction in the antigen-induced blastogenic response of human peripheral blood leukocytes
"J. Immun.", 1968; 100 : 1184.

13 - KERBER (S.), LEWI (S.),
La transformation blastique du lymphocyte.
"Méd. Intern.", 1969; 4 : 133.

14 - LING (N.R.),
Lymphocyte stimulation.- Amsterdam, North-Holland Publishing Company, 1968.- 290 p.

15 - MICHALOWSKI (A.), JASINSKA (J.), BROZOSKO (J.), NOWOSLAWSKI (A.),
Studies on P.H.A. II. Cellular localization of phytohaemagglutinin in white blood cell culture with immunochemical methods.
"Exp. Med. Microbiol.", 1965; 17 : 197.

16 - MOLLER (G.),
Induction of D.N.A. synthesis in human lymphocytes : interaction between non-specific mitogens and antigens.
"Immunology", 1970; 19 : 583.

17 - NOWELL (P.C.),
Phytohaemagglutinin : an initiation of mitosis in cultures of normal human leucocytes.
"Cancer Res.", 1960; 20 : 462.

18 - PATRUCCO (A.), ROTHFIELD (N.), HIRSCH HOLM (K.),
The response of cultured lymphocytes from patients with Systemic Lupus Erythematosus to D.N.A.
"Arthritis Rheum.", 1967; 10 : 32.

19 - PEARMAIN (G.), LYCETTE (R.R.), FITZGERALD (P.H.),
Tuberculin-induced mitosis in peripheral blood leucocytes.
"Lancet", 1963; 1 : 637.

20 - POGO (B.G.T.), ALFREY (Y.U.G.), MIRSKY (A.E.),
The effects of phytohemagglutinin on ribonucleic acid synthesis and histone acetylation in human leukocyte.
"J. Cell. Biol.", 1967; 35 : 477.

21 - REINERT (Ph.),
La transformation lymphoblastique appliquée à l'autre immunisation thyroïdienne.
Thèse Paris 1969.

22 - REINERT (Ph.), DEVILLECHABROLLE (A.), BRIBET-FORETTE (F.), CHIGOT (D.), MOULIAS (R.),
Le test de transformation blastique des lymphocytes appliqué au diagnostic des affections auto-immunes. Premiers résultats en présence d'antigènes thyroïdiens et d'A.D.N.
"Presse Méd.", 1971; 79 : 1279.

23 - ROITT (I.M.), GREAVES (M.F.), TORRIGIANI (G.), BROSTOFF (J.), PLAYFAIR (J.H.L.),
The cellular basis of immunological responses.
"Lancet", 1969; 2 : 367.

24 - SCHREK (R.),
Cell-transformation and mitosis produced in vitro by tuberculin purified protein derivative in human blood-cells.
"Ann. Rev. Resp. Dis.", 1963; 87 : 734.

25 - SELL (S.),
Studies on rabbit lymphocytes in vitro. VI. The induction of blast transformation with sheep antisera to rabbit IgA and IgM.
"J. Exp. Med.", 1967; 125 : 393.

26 - SELL (S.),
Studies on rabbit lymphocytes in vitro. V. The induction of blast transformation with sheep antisera to rabbit IgG subunits.
"J. Exp. Med.", 1967; 125 : 289.

27 - SELL (S.), GELL (P.G.H.),
Studies on rabbit lymphocytes in vitro. I. Stimulation of blast transformation with an antiallotype serum.
"J. Exp. Med.", 1965; 122 : 423.

5. 2. 3. - TEST DE MIGRATION LEUCOCYTAIRE

1 - AL-ASKARI (S.), DAVID (J.R.), LAWRENCE (H.S.), THOMAS (L.),
In vitro studies on homograft sensitivity.
"Nature", 1965, 205 ; 916.

2 - AMOS (H.E.), LACHMAN (P.J.),
The immunological specificity of a macrophage inhibition factor
"Immunology", 1970; 18 : 269.

3 - ANDERSEN (V.), BENDIXEN (G.), SCHODT (T.),
An in vitro demonstration of cellular immunity against autologous mammary carcinoma in man. Preliminary report
"Acta Med. Scand.", 1969; 186 : 101.

4 - BARTFELD (H.), ATOYNATAN (T.), KELLY (R.),
Delayed hypersensitivity studies with a modified capillary migration culture system.
"Transplantation", 1969; 7 : 242.

5 - BARTFELD (H.), ATOYNATAN (T.),
Cellular immunity : activity and properties of human migration inhibitory factor.
"Int. Arch. Allerg.", 1970; 38 : 549.

6 - BENACERRAF (B.), GELL (P.G.H.),
Studies on delayed hypersensitivity : I. Delayed and Arthus type reactivity to proteus conjugates in guinea pigs.
"Immunology", 1959; 2 : 53.

7 - BENDIXEN (G.), SOBORG (M.),
A leucocyte migration technique for in vitro detection of cellular (delayed type) hypersensitivity in man.
"Danish Med. Bull.", 1969; 16 : 1.

8 - BENDIXEN (G.),
Organ specific inhibition of the in vitro migration of leucocytes in the glomerulonephritis.
"Acta Med. Scand.", 1968; 184 : 99.

9 - BENNETT (B.), BLOOM (B.R),
Studies on the migration inhibitory factor associated with delayed type hypersensitivity : cytodynamics and specificity.
"Transplantation", 1967; 5 : suppl. 116.

10 - BERKEN (A.), BENACERRAF (B.),
Properties of antibodies cytophilic for macrophages
"J. Exp. Med.", 1966; 123 : 119.

11 - BLOOM (B.R.), BENNETT (B.), OETTGEN (H.F.), McLEAN (E.P.), OLD (L.),
Demonstration of delayed hypersensitivity to soluble antigens of chemically induced tumors by inhibition of macrophage migration.
"Proc. Nat. Acad. Sci.", 1969, 64 : 1176.

12 - BLOOM (B.R.), BENNETT (B.),
Migration inhibitory factor associated with delayed hypersensitivity
"Fed. Proc.", 1968; 27 : 13.

13 - BLOOM (B.R.), BENNETT (B.),
The capillary technique for measurement of inhibition of macrophage migration associated with delayed-type hypersensitivity.
"Rev. Europ. Etud. Clin. Biol.", 1970; 15 : 460.

14 - BLOOM (B.R.), JIMENEZ (L.),
Migration inhibitory factor and the cellular basis of delayed-type hypersensitivity reactions.
"Amer. J. Path.", 1970; 60 : 453.

15 - BLOOM (B.R.), BENNETT (B.),
Mechanism of a reaction "in vitro" associated with delayed-type hypersensitivity.
"Science", 1966; 153 : 80.

16 - BLOOM (B.R.), HAMILTON (L.D.), CHASE (M.W.),
Effects of mitomycin C on the cellular transfer of delayed-type hypersensitivity in the guinea pig.
"Nature", 1964; 201 : 689.

17 - BOREL (Y.), DAVID (J.R.),
In vitro studies of the suppression of delayed hypersensitivity by the induction of partial tolerance.
"J. Exp. Med.", 1970; 131 : 603.

18 - BOYDEN (S.V.), SORKIN (E.),
The adsorption of antigen by spleen cells previously treated with antiserum in vitro.
"Immunology", 1960; 3 : 273.

19 - BOYDEN (S.V.), SORKIN (E.),
The adsorption of antigen by spleen cells in vitro ; some further experiments.
"Immunology", 1961; 4 : 244.

20 - BROGAN (T.D.),
Leucocyte-migration test : letter to the editor
"Lancet"; 1972; 1 : 537.

21 - BROSTOFF (J.),
Etudes sur l'inhibition de la migration leucocytaire dans les maladies humaines
"Allerg. Immun.", 1970; 2 : 84. (N°1)

22 - BROSTOFF (J.), ROITT (I.M.),
Cell-mediated (delayed) hypersensitivity in patients with summer hay-fever.
"Lancet", 1969; 2 : 1269.

23 - BROSTOFF (J.), ROITT (I.M.),
Delayed hypersensitivity in hay-fever : letter to the Editor
"Lancet", 1970; 1 : 238.

24 - CARPENTER (R.R.),
In vitro studies of delayed hypersensitivity. I. Specific inhibition of migration of cells from adjuvant-immunized animals by purified protein derivated and other protein antigens
"J. Immun.", 1963; 91 : 803.

25 - CARPENTER (R.R.), BRANDRISS (M.W.),
In vitro studies of cellular hypersensitivity. II. Relationship of delayed hypersensitivity and inhibition of cell migration by picrylated proteins.
"J. Exp. Med.", 1964; 120 : 1231.

26 - CLAUDY (A.), THIVOLET (J.), VALANCOGNE (A.), SCHMITT (D.),
Comparaison entre les résultats du test d'inhibition de la migration leucocytaire (T.I.M.L.) et l'hypersensibilité cutanée à la tuberculine chez l'homme.
"Rev. Europ. Etud. Clin. Biol.", 1971; 16 : 826.

27 - DAVID (J.R.), AL-ASKARI (S.), LAWRENCE (H.S.),
Delayed hypersensitivity in vitro. I. The specificity of inhibition of cell migration by antigens.
"J. Immun.", 1964; 93 : 264.

28 - DAVID (J.R.), LAWRENCE (H.S.), THOMAS (L.),
Delayed hypersensitivity in vitro. II. Effect of sensitive cells on normal cells in the presence of antigen.
"J. Immun.", 1964. 93 : 274.

29 - DAVID (J.R.), LAWRENCE (H.S.), THOMAS (L.),
Delayed hypersensitivity in vitro. III. The specificity of hapten-protein conjugates in the inhibition of cell migration.
"J. Immun.", 1964; 93 : 279.

30 - DAVID (J.R.),
Delayed hypersensitivity in vitro. Its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen interaction.
"Proc. Nat. Acad. Sci.", 1965; 56 : 72.

31 - DAVID (J.R.),
Lymphocytic factors in the cellular hypersensitivity. p. 146-156 in : GOOD (R.A.), & FISHER (D.W.).- Immunobiology.- Stamford, Sinauer Associates, Inc., 1971, 305 p.

32 - DAVID (J.R.), LAWRENCE (H.S.), THOMAS (L.),
The in vitro desensitization of sensitive cells by trypsin
"J. Exp. Med.", 1964; 120 : 1189.

33 - DAVID (J.R.), SCHLOSSMAN (S.F.),
Immunochemical studies on the specificity of cellular hypersensitivity the in vitro inhibition of peritoneal exudate cell migration by chemically defined antigen.
"J. Exp. Med.", 1968; 128 : 1451.

34 - DEKARIS (D.), VESELIC (B.), TOMAZIC (V.),
In vitro studies of delayed hypersensitivity : inhibition of macrophage spreading in rats sensitive to tuberculin and diphtheria toxoid.
"Immunology", 1971; 20 : 363.

35 - DUMONDE (D.C.), WOLSTENCROFT (R.A.), PANAYI (G.S.), MATTHEW (M.), MORLEY (J.)
"Lymphokines" non-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocytic activation.
"Nature", 1969; 224 : 38.

36 - EDDLESTON (A.L.), WILLIAMS (R.), CALNE (R.Y.),
Cellular immune response during rejection of a liver transplant in man.
"Nature", 1969; 222 : 674.

37 - FALK (R.E.), COLLSTE (L.), MOLLER (G.),
Release of migration inhibitory factors from immune rat lymphocytes confronted with histocompatibility antigens.
"Nature", 1969; 224 : 1206.

38 - FAUVE (R.M.), DEKARIS (D.),
Macrophage spreading : inhibition in delayed hypersensitivity.
"Science", 1968; 160 : 795.

39 - FERRARESI (R.W.), DEDRICK (C.T.), RAFFEL (S.), GOIHMAN YAHR (M.),
Studies of the macrophage inhibition test reactions. I. Comparison of the skin and cell migration reactions during the course of development of delayed hypersensitivity.
"J. Immun.", 1969; 102 : 852.

40 - GEORGE (M.), VAUGHAN (J.H.),
"In vitro" cell migration as a model for delayed hypersensitivity.
"Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 1962; 111 : 514.

41 - GOUST (J.M.),
Contribution à l'étude d'un nouveau test d'hypersensibilité retardée in vitro chez l'homme : le test de migration des leucocytes (T.M.L.)
Thèse Paris 1971.

42 - GRANGER (G.A.), MOORE (G.E.), WHITE (J.G.), MATZINGER (P.), SUNDSMO (J.S.) SHUPE (S.), KOLB (W.P.), KRAMER (J.), GLADE (P.R.),
Production of lymphotoxin and migration inhibitory factor by established human lymphocytic cell lines.
"J. Immun.", 1970; 104 : 1476.

43 - HEISE (E.R.), HAN (S.), WEISER (R.S.),
In vitro studies on the mechanism of macrophage migration inhibition in tuberculin sensitivity
"J. Immun.", 1968; 101 : 1004.

44 - HOLM (G.), PERLMANN (P.),
Cytotoxic potential of stimulated human lymphocytes.
"J. Exp. Med.", 1967; 125 : 721.

45 - HUBER (H.), FUDENBERG (H.H.),
Receptor sites of human monocytes for IgG.
"Int. Arch. Allerg.", 1968; 34 : 18.

46 - KALTREIDER (H.B.), SOGHOR (D.), TAYLOR (J.B.), DECKER (J.L.),
Capillary tube migration for detection of human delayed hypersensitivity : difficulties encountered with "buffy coat" cells and tuberculin antigen.
"J. Immun.", 1969; 103 : 179.

47 - KRONMAN (B.S.), WEPSIC (H.T.), CHURCHILL (W.H.) jr. ZBAR (B.), BORSOS (T.), RAPP (H.J.),
Tumor-specific antigens detected by inhibition of macrophage migration
"Science", 1969; 165 : 296.

48 - KYRIAZIS (A.P.),
Inhibition of migration of macrophages by tumor specific antigen
Abstracts sixth Annual Meeting of the Reticuloendothelial Society, 1969, p. 27.

49 - LAMELIN (J.P.),
Inhibition of macrophage migration, p. 75.
in : Cell mediated immunity in vitro correlates, Basel, Karger, 1971.-

50 - LAMELIN (J.P.), VASSALI (P.),
Inhibition of macrophage migration by a soluble factor from lymphocytes stimulated with P.H.A. or A.L.S.
"Nature", 1971; 229 : 426.

51 - LANDSTEINER (K.), CHASE (M.W.),
Studies on sensitization of animals with simple chemical compounds : skin sensitization by intra-peritoneal injections.
"J. Exp. Med.", 1940; 71 : 237.

52 - LAWRENCE (H.S.),
Transfer factor.
"Advances Immun.", 1969; 11 : 195.

53 - LAWRENCE (H.S.),
The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leukocytes.
"J. Clin. Invest.", 1955; 34 : 219.

54 - LIPSMEYER (E.A.), KANTOR (F.S.),
Delayed hypersensitivity. III. Effect of pre-exposure to antigen upon macrophage migration.
"J. Immun.", 1969; 102 : 1074.

55 - LOCKSHIN (M.D.),
Failure to demonstrate leukocyte migration inhibition in human tuberculin hypersensitivity.
"Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 1969; 132 : 928.

56 - LOCKSHIN (M.D.),
Delayed hypersensitivity in hay-fever : letter to the Editor.
"Lancet", 1970; 1 : 238.

57 - MacKANESS (G.B.),
The influence of immunologically committed lymphoid cells on macrophage activity in vivo.
"J. Exp. Med.", 1969; 129 : 973.

* - MAINI et al. voir n° 95

58 - MALLICK (N.P.), WILLIAMS (R.J.), McFARLANE (H.), ORR (W. Mc N.), TAYLOR (G.), WILLIAMS (G.),
Cell-mediated immunity in nephrotic syndrome.
"Lancet", 1972; 1 : 507.

59 - MELNICK (H.D.),
Inhibition of macrophage migration and the mediation of cellular immunity : a review.
"Ann. Allerg.", 1971; 29 : 195.

60 - MOULIAS (R.), GOUST (J.M.), DEVILLE CHABROLLE(A.), BUFFET (C.), MULLER-BERAT (C.N.),
Le test de migration des leucocytes du sang périphérique (T.M.L.) ; un nouveau test d'hypersensibilité retardée chez l'homme. II. Utilisation dans les affections auto-immunes humaines. Résultats préliminaires et interprétation.
"Presse Méd.", 1970; 78 : 2315.

61 - MOULIAS (R.), REINERT (Ph.), GOUST (M.), DEVILLE CHABROLLE (A.), ALCALAY (M.),

Cell-mediated immunity (delayed hypersensitivity) in Systemic Lupus Erythematosus.
VII congrès européen de Rhumatologie, Brighton 1971, Abs. n° 6-1

62 - MULLER-BERAT (C.N.), MOULIAS (R.),
Le test de migration des leucocytes du sang périphérique (T.M.L.) ; un nouveau test d'hypersensibilité retardée in vitro chez l'homme. I. Méthodes et exemples d'applications pratiques.
"Presse Méd.", 1970; 78 : 77.

63 - MULLER-BERAT (C.N.), MOULIAS (R.), DEVILLE CHABROLLE (A.), SELLIER (Ph.), GOUST (M.), BUFFET (C.), BERTHAUX (P.),
Aperçus préliminaires sur le test de migration des leucocytes du sang périphérique ; un nouveau test d'hypersensibilité retardée applicable à l'homme.
"Ann. Méd. Intern.", 1970; 121 : 249.

64 - NELSON (D.S.),
Studies on cytophilic antibodies. A mouse serum "antibody" having an affinity for macrophages and fast alpha-globulin mobility.
"Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.", 1970; 48 : 329.

65 - NELSON (D.S.), MILDENHALL (P.),
Studies on cytophilic antibodies. I. The production by mice of macrophage cytophilic antibodies to sheep erythrocytes : relationship to the production of other antibodies and the development of delayed-type hypersensitivity.
"Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.", 1967; 45 : 113.

66 - NORDQVIST (E.), RORSMAN (H.),
Macrophage aggregation in vitro in human delayed hypersensitivity.
"Int. Arch. Allerg.", 1971; 41 ; 127.

67 - PACKALEN (T.), PALMSTIERNA (H.A.), WASSERMAN (J.),
Purification of a cytotoxic serum factor from thyroglobulin sensitized guinea-pigs.
"Immunology", 1967; 13 : 119.

68 - PICK (E.), KREJCI (J.), CECH (K.), TURK (J.L.),
Interaction between sensitized lymphocytes and antigen in vitro. I. The release of a skin reactive factor.
"Immunology", 1969; 17 ; 741.

69 - RAUCH (H.C.), FERRARESI (R.W.), RAFFEL (S.), ROBOZ-EINSTEIN (E.),
Inhibition of in vitro cell migration in experimental allergic encephalomyelitis.
"J. Immun.", 1969; 102 : 1431.

70 - REMOLD (H.G.), HABER (E.), DAVID (J.R.),
Cellular hypersensitivity : recovery of migration inhibitory factor (M.I.F.) following purification on acrylamide gel disc electrophoresis.
"Fed. Proc.", 1969; 28 : 629, abstract n° 2067.

71 - REMOLD (H.G.), WARD (P.), DAVID (J.R.),
Characterization of migration inhibitory factor (M.I.F.) and its separation from a chemotactic factor for monocytes.
"Int. Arch. Allerg.", 1971; 41 : 16.

72 - RICCI (M.), ROMAGNANI (S.), PASSALEVA (A.), BILIOTTI (G.),
Lymphocyte transformation and macrophage migration in guinea-pigs immunized with Freund's complete adjuvant.
"Clin. Exp. Immun.", 1969; 5 : 659.

73 - RICH (A.R.), LEWIS (M.R.),
Nature of allergy in tuberculosis as revealed by tissue culture studies.
"Bull. Hopkins Hosp.", 1932; 50 : 115.

74 - ROCKLIN (R.E.), MEYERS (O.L.), DAVID (J.R.),
An in vitro assay for cellular hypersensitivity in man.
"J. Immun.", 1970; 104 : 95.

75 - ROCKLIN (R.E.), ROSEN (F.S.), DAVID (J.R.),
In vitro lymphocyte response of patients with immunologic deficiency diseases. Correlation of production of macrophage inhibitory factor with delayed hypersensitivity.
"New Eng. J. Med.", 1970; 282 : 1340.

76 - ROCKLIN (R.E.), ROSEN (F.S.), DAVID (J.R.),
Macrophage migration inhibition test : letter to the Editor.
"New Eng. J. Med.", 1970; 283 : 493.

77 - ROSENBERG (S.A.), DAVID (J.R.),
Inhibition of leukocyte migration : an evaluation of this in vitro assay of delayed hypersensitivity in man to soluble antigens
"J. Immun.", 1970; 105 : 1447.

78 - RUDDLE (N.H.), WAKSMAN (B.H.),
Cytotoxic effect of lymphocyte-antigen interaction in delayed hypersensitivity.
"Science", 1967; 157 : 1060.

79 - RUDDLE (N.H.), WAKSMAN (B.H.),
Cytotoxicity mediated by soluble antigen and lymphocytes in delayed hypersensitivity.

I. - Characterization of the phenomenon
II. - Correlation of the in vitro response with skin reactivity
III. - Analysis of mechanism

"J. Exp. Med.", 1968; 128 : 1237 + 1255 + 1267.

80 - SALVIN (S.B.), NISHIO (J.),
"In vitro" cell reactions in delayed hypersensitivity.
"J. Immun.", 1969; 103 : 138.

81 - SKOPINSKA (E.), ZALESKA-RUTCZYNSKA (Z.), WASIK (M.),
Indirect migration inhibition test in xenogeneic systems

I. - Delayed hypersensitivity to B.C.G.
II. - Allograft sensitization

"Bull. Acad. Pol. Sci.", 1969; 17 : 589 + 595.

82 - SOBORG (M.),
In vitro detection of cellular hypersensitivity in man. Specific migration inhibition of white blood cells from brucella-positive persons.
"Acta Med. Scand.", 1967; 182 : 167.

83 - SOBORG (M.),
In vitro migration of peripheral human leucocytes in cellular hypersensitivity.
"Acta Med. Scand.", 1968; 184 : 135.

84 - SOBORG (M.),
The development of cellular hypersensitivity in man after a primary immunization.
"Acta Med. Scand.", 1968; 184 : 459.

85 - SOBORG (M.),
Interaction of human peripheral lymphocytes and granulocytes in the migration-inhibition reaction
"Acta Med. Scand.", 1969; 185 : 221.

86 - SOBORG (M.), BERTRAM (U.),
Cellular hypersensitivity in Sjogren's syndrome
"Acta Med. Scand.", 1968; 184 : 319.

87 - SPITLER (L.), HUBER (H.), FUDENBERG (H.H.),
Inhibition of capillary migration by antigen-antibody complexes
"J. Immun.", 1969; 102 : 404.

88 - STASTNY (P.), ZIFF (M.),
Inhibition of macrophage migration produced by polymorphonuclear leucocytes.
"J. Reticuloendothel. Soc.", 1970; 7 : 140.

89 - THOR (D.E.), DRAY (S.),
A Correlate of human delayed hypersensitivity : specific inhibition of capillary tube migration of sensitized human lymph node cells by tuberculin and histoplasmin.
"J. Immun.", 1968; 101 : 51.

90 - THOR (D.E.), JUREZIZ (R.E.), VEACH (S.R.), MILLER (E.), DRAY (S.),
Cell migration inhibition factor released by antigen from human peripheral lymphocytes.
"Nature", 1968; 219 : 755.

91 - WARD (P.A.), REMOLD (H.G.), DAVID (J.R.),
Leukotactic factor produced by sensitized lymphocytes
"Science", 1969; 163 : 1079.

92 - WASSERMAN (J.), PACKALEN (T.),
Immune responses to thyroglobulin in experimental allergic thyroiditis
"Immunology", 1965 : 9 : 1.

93 - WILLIAMS (T.W.), GRANGER (G.A.),
Lymphocyte in vitro cytotoxicity : lymphotoxins of several mammalian species.
"Nature", 1968; 219 : 1076.

94 - WILLIAMS (T.W.), GRANGER (G.A.),
Comparison of the sensitivities of various cell lines to human lymphotoxin
"Fed. Proc.", 1970; 29 : 306 abstract

95 - MAINI (R.N.), BRYCESON (A.D.M.), WOLTENCROFT (R.A.), DUMONDE (D.C.)
Lymphocyte mitogenic factor in man
"Nature", 1969; 224 : 43